Das Multioszillatorsystem von Drosophila.

Ein Vergleich der tagesperiodischen Steuerung der Laufaktivität und des Schlüpfens

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie

der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von

JÜRGEN MACK

aus Göppingen

1980

0 494

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548919_0083

Das Multioszillatorsystem von Drosophila.

Ein Vergleich der tagesperiodischen Steuerung der Laufaktivität und des Schlüpfens

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie

der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von

JÜRGEN MACK

aus Göppingen

1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung	11. 9. 1980
Dekan	Prof. Dr. W. Seyffert
1. Berichterstatter	Prof. Dr. W. Engelmann
2. Berichterstatter	Prof. Dr. E. Bünning

Gesamtherstellung: **aku** - Fotodruck GmbH, 8600 Bamberg

Beim Abschluß dieser Arbeit möchte ich mich besonders bedanken bei:

- Wolfgang Engelmann - er betreute die Arbeit und war immer hilfreich zur Stelle, nicht ohne mir ein selbständiges Arbeiten zu ermöglichen
- Martin Schrempf - seine Ideen waren wertvolle Anregungen für die weitere Planung der Arbeit
- allen Mitgliedern unserer Arbeitsgruppe und des Instituts, die ich während der Arbeit kennengelernt und von denen ich manchen wichtigen Hinweis bekommen habe
- und nicht zuletzt meiner Frau Eva, die mich in der ganzen Zeit unterstützte, wo sie konnte

Die Arbeit wurde durch Stipendien und Kredite nach dem Graduierten-Förderungs-Gesetz an mich und aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Schwerpunktprogramm "Biologie der Zeitmessung") an Prof. Dr. W. Engelmann (En 42/22) unterstützt.

für E.

INHALTSVERZEICHNIS

A Einleitung 1

B Material und Methoden 4

C Ergebnisse 11

I Laufaktivität von Drosophila pseudoobscura und Drosophila melanogaster in DD, RR und LL 11

II Laufaktivität in LD 12:12 und RD 12:12 18

III Phasenresponsekurven 20

IV Versuche an der Mutante Drosophila melanogaster sine oculis 25

V Versuche an den Mutanten Ly^3 und Jk 84 im Vergleich mit der Wildform 28

VI Auswirkung von LiCl, KCl und RbCl auf die circadiane Rhythmik von Drosophila 31

D Diskussion 35

Teil 1: Vergleich zwischen Schlüpfrhythmik und Laufaktivitätsrhythmik 35

Teil 2: Das Komplexauge als Photorezeptor für die Laufaktivitätsrhythmik. Lokalisation des Oszillators 44

Teil 3: Die Wirkung von Lithiumchlorid, Kaliumchlorid und Rubidiumchlorid auf die circadiane Laufaktivität von Drosophila 49

E Zusammenfassung 54

F Literaturverzeichnis 57

G Anhang 66

Es werden die folgenden Abkürzungen und Bezeichnungen verwendet:

LL	:	Dauerlicht (weiß)
DD	:	Dauerdunkel
RR	:	Dauerrotlicht
LD	:	Licht-Dunkel-Wechsel (weiß)
RD	:	Rotlicht-Dunkel-Wechsel
LL/DD	:	Übergang von Dauerlicht nach Dauerdunkel
LL/RR	:	Übergang von Dauerlicht nach Dauerrotlicht
CT	:	Circadiane Zeit; normierter Zeitmaßstab für eine volle circadiane Periode
advance	:	verfrühte Phasenlage
delay	:	verspätete Phasenlage
φ	:	Phase
$\Delta\varphi$	:	Phasenverschiebung
τ	:	Freilaufperiode
$\Delta\tau$	:	Veränderung der Freilaufperiode

A EINLEITUNG

Lange Zeit herrschte die Ansicht vor, daß bei Tieren sämtliche tagesperiodisch ablaufenden Prozesse von einer zentralen Koordinationsstelle gesteuert werden. BÜNNING (1958a) nannte diese die "physiologische Uhr". Nach der sogenannten BÜNNING-Hypothese (1936,1960 u.a.) werden von dieser Uhr außerdem auch photoperiodische Reaktionen gesteuert. BÜNNING weist allerdings darauf hin, daß "auch bei höheren Tieren kein Steuerungszentrum in dem Sinne besteht,daß ein Organ die Funktion einer Hauptuhr übernommen hat", sondern daß die betreffenden Organe für die "physiologisch sinnvolle Abstimmung der Einzeloszillationen aufeinander wichtig" sind (1977, S. 42).

Es mehren sich die Anzeichen dafür, daß circadiane Rhythmen durch Multioszillatorsysteme kontrolliert werden. Nach dieser Vorstellung werden verschiedene tagesperiodischen Phänomene eines Organismus von jeweils zuständigen Oszillatoren getrieben, die unterschiedliche Eigenschaften aufweisen können (Solche treibenden Oszillatoren, die verschiedene untergeordnete Oszillatoren bzw. Oszillationen steuern, werden im folgenden der Einfachheit halber schlicht als Oszillatoren bezeichnet).

So erklärt SAUNDERS (1978) die je nach Entwicklungsstand unterschiedlichen Phasenresponsekurven auf Licht bei Sarcophaga mit mehreren Oszillatoren. In Aplysia enthält jedes Auge einen eigenen Oszillator und dessen Photorezeptor (LICKEY et al.1976). Sogar in dem Einzeller Euglena gracilis wurden verschiedene Periodenlängen für die Rhythmen der Beweglichkeit und des Anheftens gefunden (KIEFNER et al. 1974). Bei der Schabe Leucophaea maderae wurden zwei Oszillatoren, die die Laufaktivität steuern, in den beiden Lobi optici ge-

funden (NISHIITSUTSUJI-UWO u. PITTENDRIGH 1968a,b; PAGE 1978). Außerdem werden hier die Laufaktivitätsrhythmik und die Kutikularrhythmik von verschiedenen Oszillatoren kontrolliert (WIEDENMANN 1978).

Voraussetzung für solche Untersuchungen sind Meßmöglichkeiten verschiedener circadianer Rhythmen am gleichen Objekt. Diese Bedingung ist bei Drosophila durch das Auftreten von Schlüpf-und Laufaktivitätsrhythmik erfüllt.
Die Schlüpfrhythmik von Drosophila pseudoobscura wurde hinsichtlich der Periodenlänge, der Reaktion auf Störlicht usw. von verschiedenen Autoren bereits eingehend untersucht (CHANDRASHEKARAN 1967; ENGELMANN 1966, 1969; PITTENDRIGH 1964, 1966; WINFREE 1970, 1972; HONEGGER 1967).
In der vorliegenden Arbeit wurde geprüft, ob die Laufaktivitätsrhythmik vom gleichen Oszillator gesteuert wird wie die Schlüpfrhythmik und welche Reaktionen sie auf Störungen mit Lichtpulsen zeigt. Außerdem wurde untersucht, ob die Laufaktivitätsrhythmik ebenso wie die Schlüpfrhythmik durch eine spezielle Belichtung ausgeschaltet werden kann. WINFREE (1970a,b) hat hierfür eine Methode entwickelt, bei der ein Oszillator mit einer bestimmten Störgröße S^* zu einem bestimmten Zeitpunkt T^* innerhalb eines circadianen Zyklus in einen nicht schwingenden Zustand versetzt werden kann. Dieser Singularitätspunkt, der auch theoretisch gefordert wird (PAVLIDIS 1968), ist schon für verschiedene Organismen gefunden worden (WINFREE 1970a,b; ENGELMANN et al. 1973).

Ein weiterer Gegenstand der Untersuchung war der Photorezeptor für die Laufaktivitätsrhythmik. Es ist schon seit längerem bekannt, daß die Schlüpfrhythmik auf Wellenlängen reagiert, die vom Komplexauge nicht

wahrgenommen werden können (CHANDRASHEKARAN u. ENGELMANN 1973; NINNEMANN 1979). Das Komplexauge kann also nicht der Photorezeptor für die Schlüpfrhythmik sein. In der vorliegenden Arbeit werden die Verhältnisse bei der Laufaktivitätsrhythmik an adulten Tieren untersucht.

Es ist schon verschiedentlich gelungen, circadiane Oszillatoren zu lokalisieren. So weiß man, daß bei Schaben Oszillatoren in den Lobi optici sitzen (PAGE 1978). Bei Spatzen scheint das Pinealorgan den Oszillator zu beinhalten (ZIMMERMAN u. MENAKER 1975). HANDLER und KONOPKA (1979) haben bei Drosophila durch Verpflanzung von Gehirnen von rhythmischen auf arhythmische Tiere gezeigt, daß diese den Oszillator beinhalten müssen. In dieser Arbeit wird der Versuch unternommen, den Sitz des Oszillators näher einzukreisen.

B MATERIAL UND METHODEN

Für die Versuche wurden die Stämme Drosophila pseudo-obscura (Stamm PU 301 aus dem Labor C.S.PITTENDRIGH, Princeton N.J., USA) und Drosophila melanogaster Wildform (Labor K.G. GÖTZ, Tübingen) sowie die Drosophila melanogaster-Mutanten Ly^3 ("sevenless", Labor S. BENZER, Pasadena Calif., USA), Jk 84 ("outer rhabdomers absent", Labor J.A. MARRIAM, Los Angeles Calif., USA), sine oculis (M.E. POWER 1943) und white (w, Labor K.G. GÖTZ, Tübingen) gewählt.
Die Tiere wurden seit Jahren auf einem bewährten Nährmedium (Zusammensetzung siehe Anhang) gezüchtet. Die Zucht erfolgte in einer speziellen Kammer anfangs unter Konstantbedingungen bei 22°C und 3000 Lux (Osram L 65 W/25 Universal-Weiß), später im LD 12:12, ebenfalls bei 22°C und 3000 Lux in der Lichtphase. Die Umstellung auf LD erfolgte deshalb, weil während der Versuche der Eindruck entstanden war, daß durch die zum Teil jahrelange Züchtung im LL, was schätzungsweise einigen hundert Generationen entspricht, der Anteil an Tieren, die eine undeutliche Rhythmik zeigten, unverhältnismäßig groß geworden war. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, daß unter Konstantbedingungen Tiere mit guter Rhythmik keinen Selektionsvorteil mehr gegenüber solchen mit schlechter Rhythmik haben.
Die Mutanten von Drosophila melanogaster unterscheiden sich von der Wildform wie folgt:
Während die Wildform im einzelnen Ommatidium acht Rhabdomere besitzt, von denen sechs äußere (R 1-6) um zwei übereinanderstehende innere (R 7+8) angeordnet sind (Abb. 1), fehlt der Mutante Ly^3 Rhabdomer Nr. 7 und der Mutante Jk 84 die Rhabdomere Nr. 1-6. Was diese Mutanten für die Rhythmikforschung interessant macht, ist die Tatsache, daß R 1-6 einerseits und R 7+8 andererseits verschiedenen Sehsystemen angehören. R 1-6 stellt

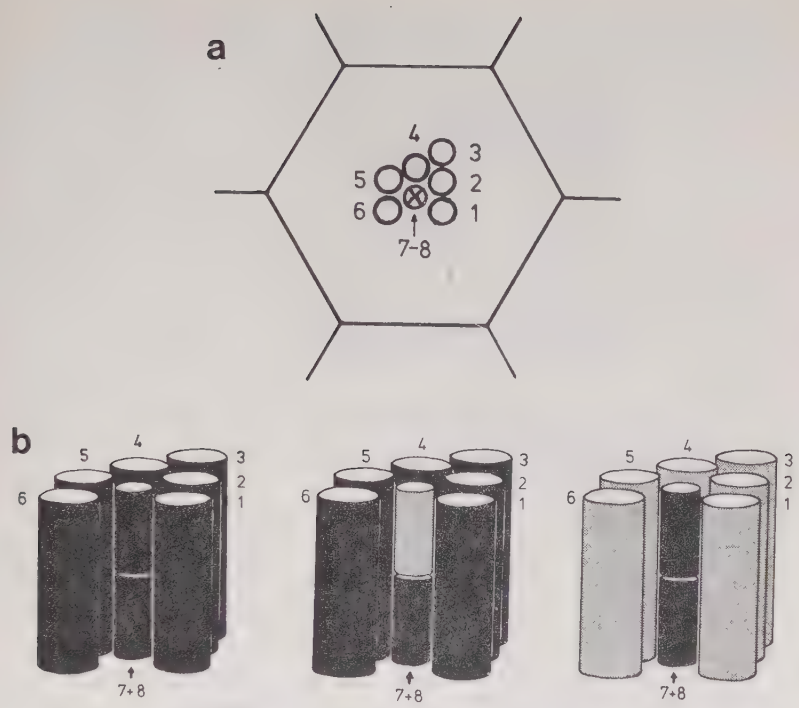

Abb. 1 a) Schematisierter Schnitt durch ein Ommatidium von Drosophila mit der Anordnung der Rhabdomere. b) Räumliche Darstellung der Rhabdomere. Die sechs Rhabdomere des Nachtsystems sind um die zwei Rhabdomere des Tagsystems angeordnet. Gerasterte Flächen stellen fehlende Rhabdomere dar. 1.) Wildform 2.) Ly^2 3.) Jk 84

ein System dar, das sehr lichtempfindlich ist, aber ein unscharfes Bild zeichnet und etwas vereinfacht als Nachtsystem bezeichnet werden kann. Dagegen ist R 7+8 weniger lichtempfindlich (etwa um den Faktor 20-50), zeichnet jedoch ein scharfes Bild und kann entsprechend als Tagsystem bezeichnet werden (GÖTZ 1975, KIRSCHFELD 1969,

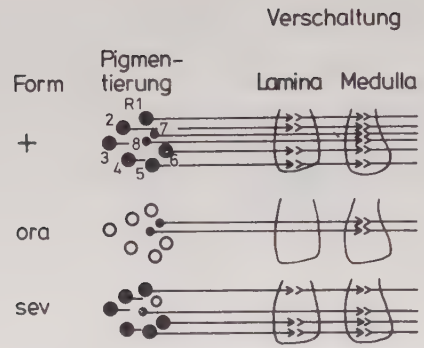

Abb. 2 Pigmentierung der Rhabdomere und Verschaltung der Neuronen im Lobus opticus.
\+ ≙ Drosophila melanogaster Wildform
ora ≙ Jk 84 (outer rhabdomeres absent)
sev ≙ Ly? (sevenless)
➔≻ ≙ Synapse

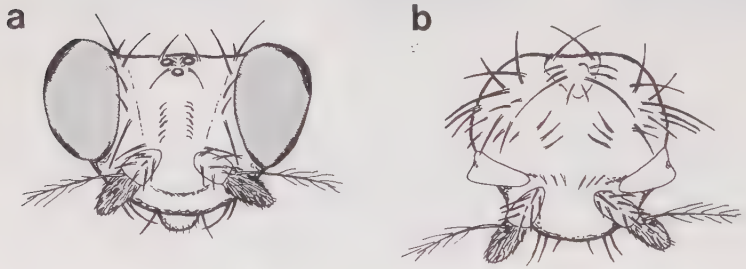

Abb. 3 Frontalansicht von Köpfen von Drosophila melanogaster.
a) Wildform mit normal ausgebildeten Komplexaugen und Ocelli.
b) Mutante sine oculis mit völlig reduzierten Komplexaugen und fehlenden Ocelli.

1971, ECKERT 1971). Diese beiden Systeme zeigen nun im Lobus opticus eine unterschiedliche nervöse Verschaltung. Die Neuronen des Nachtsystems besitzen Synapsen in der Lamina und in der Medulla, während das Tagsystem nur Synapsen in der Medulla aufweist (HEISENBERG und BUCHNER 1977; siehe auch HARRIS et al. 1976; PAK u. PINTO 1976) (Abb. 2).

Die Mutante sine oculis weist alle Zwischenstufen von vollständigen, der Wildform entsprechenden Komplexaugen bis zu total reduzierten Augen auf (Abb. 3), wobei die Mutation (d,h. der Gewebeverlust) maximal bis zur Mitte der Medulla (Abb. 4) vorschreiten kann (GÖTZ, mündliche Mitteilung). Außerdem besitzt diese Mutante keine Ocelli. Der Mutante white fehlen die roten Abschirmpigmente im Komplexauge.

Die Laufaktivität der Tiere wurde mit Hilfe von Infrarot-Lichtschranken registriert. Dabei wurden die Tiere einzeln in kleine Plexiglas-Petrischalen (Durchmesser 35 mm, Höhe 11 mm) eingesetzt. Die Tiere wurden entweder mittels einer Federstahlpinzette im Puppenstadium aus den Zuchtgefäßen gesammelt und in die Petrischalen eingesetzt, oder im adulten Zustand entweder mit CO_2 oder durch Kälteschock betäubt und dann ebenfalls mit der Federstahlpinzette eingesetzt. Die Übertragungsmethode ergab in den Versuchsergebnissen keinen Unterschied. Die Petrischalen wurden durch eine Trennwand mit einem kleinen Durchgang, durch den die Lichtschranke gelegt wurde, in zwei gleichgroße Hälften geteilt. In der einen Hälfte wurde Zucker (in einigen Versuchen Zucker und Trockenhefe), in der anderen Hälfte destilliertes Wasser angeboten. Das Unterbrechen des Lichtstrahls erzeugt einen Impuls, der über einen Verstärker zu einem Ereignisschreiber (Esterline Angus) geleitet wurde und dort eine Schreibfeder auslenkte. Es standen insgesamt

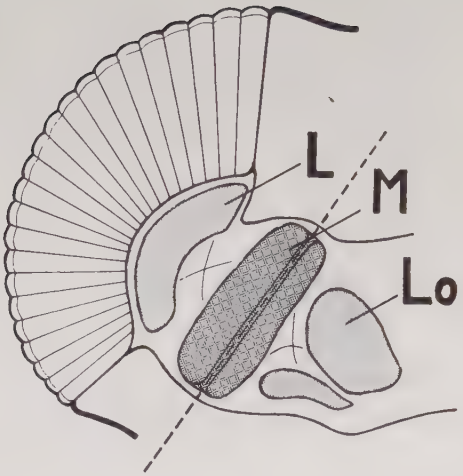

Abb. 4 Schematisierter Schnitt durch das Komplexauge und den Lobus opticus von Drosophila melanogaster. L = Lamina, M = Medulla, Lo = Lobula. Gestrichelte Linie: Grenze, bis zu der bei der Mutante sine oculis das Gewebe maximal reduziert sein kann. Nach HEISENBERG und BUCHNER, verändert.

40 Meßstellen zur Verfügung. Der fortlaufende Papierstreifen jeder einzelnen Meßstelle wurde in 24-Std.-Abschnitte zerlegt und diese dann entsprechend den einzelnen Tagen untereinandergeklebt. So entsteht ein Aktogramm (Abb. 5).

Als Bezugspunkt für die Auswertung wurde in den meisten Fällen der Aktivitätsbeginn herangezogen. So wurde z.B. die Periodenlänge dadurch bestimmt, daß durch die aufeinanderfolgenden Aktivitätsbeginne eine Gerade gezogen und aus der Steigung der Geraden τ abgelesen wurde. Ebenso wurden Phasenverschiebungen über die Verschiebung der Aktivitätsbeginne vorher und nachher bestimmt. Ein

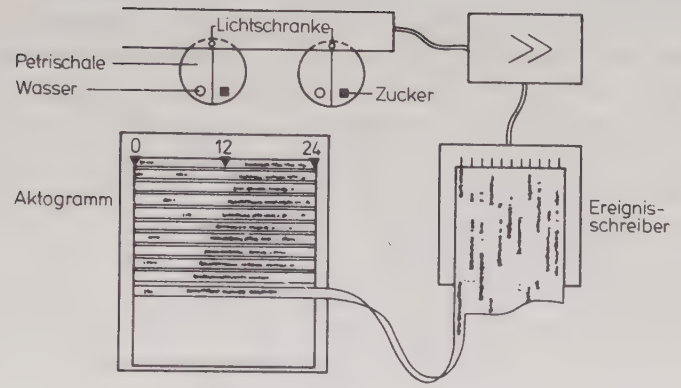

Abb. 5 Registrierung der Laufaktivität von adulten Drosophila-Fliegen. Einzelne Fliegen werden in Petrischalen eingesetzt. Zucker und Wasser werden ad lib. angeboten. Durch eine Trennwand werden die Fliegen dazu gebracht, während ihrer Aktivitätsperiode eine Infrarot-Lichtschranke zu durchqueren. Die dadurch entstehenden Signale werden verstärkt und zu einem Ereignisschreiber geleitet, wo sie eine Schreibfeder auslenken. Das Schreiberpapier wird zur Herstellung eines Aktogramms in 24 Std.-Abschnitten untereinander geklebt. Der Durchgang durch die Lichtschranke ist so eng, daß tatsächlich nur die Laufaktivität und nicht die allgemeine lokomotorische Aktivität (z.B. Fliegen) gemessen wird.

Teil der Aktogramme wurde mittels einer Zeitreihenanalyse ausgewertet (MARTIN u.a. 1977).
In der Versuchskammer herrschten ständig 22°C. Das Lichtprogramm wechselte je nach Fragestellung zwischen DD, RR, LL, LD 12:12 und RD 12:12 (Rotlichtlampe: Philips TL 20 W/25 A 032 und Filter Rank Strand Cinemoid Nr. 6 "Primary Red"; Weißlichtlampe: Osram L 65 W/25 Universal-Weiß).
Zur Verabreichung von Lichtpulsen wurden die Fliegen

einzeln zur gewünschten Phasenlage in einen gesonderten Konstantraum mit 22°C und 3000 Lux weißes Licht (Lampen-Nr. siehe oben) gebracht. Um sonstige Störgrößen so gering wie möglich zu halten und eine konstante Wasserversorgung zu gewährleisten, wurden die Wasservorratsgefäße mitgenommen. Unmittelbar nach Beendigung des Lichtpulses wurden die Tiere wieder in die Lichtschranken eingeschoben. Die Dauer der Lichtpulse wurde an die individuellen Periodenlängen der Fliegen angepaßt. So wurde z.B. für die Phasenresponsekurve auf 12-stündige Lichtpulse einer Fliege mit einer Periodenlänge von 23 Std. ein Lichtpuls von nur 11,5 Std. verabreicht. Ebenso wurde auch der Zeitpunkt der Pulse auf circadiane Zeiten umgerechnet. Die Angaben beziehen sich auf Aktivitätsbeginn = CT 0 und Mitte des Lichtpulses. So wurde also ein Lichtpuls bei CT 6 so berechnet, daß die Pulsmitte für ein Tier mit 23 Std. Periodenlänge 5 Std. und 45 Min. nach Aktivitätsbeginn zu liegen kam.
Belichtet wurden nur diejenigen Tiere, die im Freilauf über mindestens fünf Tage gut erkennbare Aktivitätsbeginne mit geringen Schwankungen zeigten. So konnten die Aktivitätsbeginne der nächsten Tage extrapoliert und die Zeitpunkte für die Lichtpulse vorausberechnet werden. Die erreichte Phasenverschiebung konnte anschließend direkt auf dem Aktogramm abgelesen werden.

Bei einigen Versuchen wurde den Tieren im Trinkwasser LiCl, RbCl und KCl (Merck) verabreicht. Kalium-freie Diät wurde mittels Verwendung von reiner D(+)-Saccharose und destilliertem Wasser in PVC-Flaschen mit Cellulose-Docht erreicht.

C ERGEBNISSE

I Laufaktivität von Drosophila pseudoobscura und Drosophila melanogaster im DD, RR und LL

Zu Beginn der Versuche wurden die Tiere nach Männchen und Weibchen aufgeteilt und getrennt untersucht. Die Bestimmung des Geschlechts ist im Puppenstadium am einfachsten, da die Gonaden der Männchen rot sind und deutlich durch die Puppenhülle schimmern, während die Weibchen weiße Gonaden besitzen. Es wurden zunächst bei einigen wenigen Weibchen unregelmäßige Aktivitätsmuster festgestellt (z.B. Daueraktivität), die jedoch später auch bei Männchen auftraten und höchstwahrscheinlich auf Wasserstreß oder ähnliches zurückzuführen sind. Insgesamt wurden also keine geschlechtsspezifischen Unterschiede festgestellt, wie sie z.B. bei der Laufaktivität von Schaben (WIEDENMANN 1978) auftreten. Daher wurde im weiteren das Geschlecht der Tiere nicht mehr festgestellt.

Drosophila pseudoobscura im Freilauf unter Konstantbedingungen (Abb. 6) Periodenlängen von durchweg kürzer als 24 Std. Das Mittel der Periodenlängen liegt bei 22,5 Std. Die Werte streuen von 21,3 Std. bis 23,9 Std. und zeigen eine Normalverteilung (Abb.7). Die Lichtstärke des Rotlichts betrug je nach Entfernung von der Lichtquelle zwischen 1 und 20 $\mu W/cm^2$.
Drosophila melanogaster läuft in Konstantbedingungen ebenfalls frei (Abb.8). Hier liegt das Mittel der Periodenlängen mit 23,38 Std. (S.E. 0,08) allerdings etwas höher. Da in anderen Versuchen (siehe C II) festgestellt wurde, daß die Tiere das sogenannte Sicherheitslicht sehen können, wurde τ für Drosophila melanogaster auch in DD gemessen. Hier liegt das Mittel bei 22,9 Std. Da dieses Ergebnis der ASCHOFF-Re-

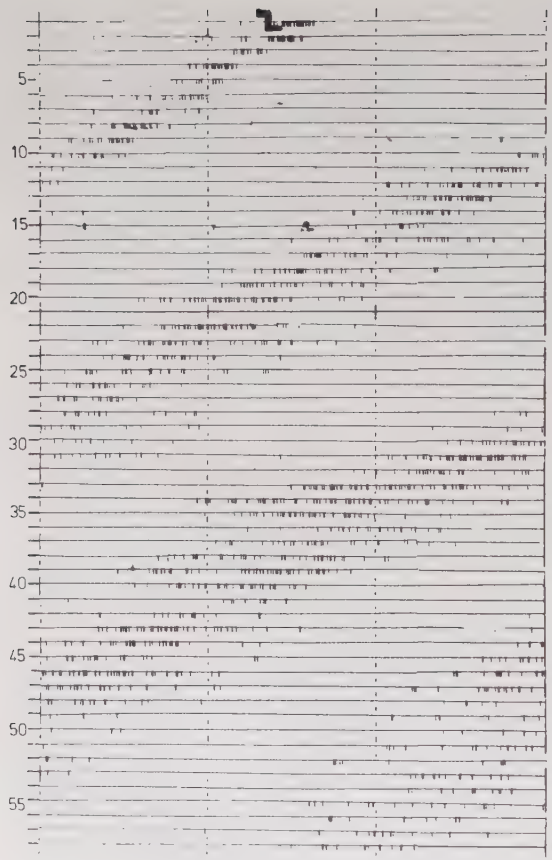

Abb.6 Freilauf einer Drosophila pseudoobscura in RR über 58 Tage. Die Periodenlänge im ersten Teil des Aktogramms beträgt 22,6 Std. Man sieht, daß sich sowohl die Periodenlänge als auch das Verhältnis von Aktivität zu Ruhe (α:δ) mit zunehmendem Alter verändern kann. Übergang von LL nach RR bei

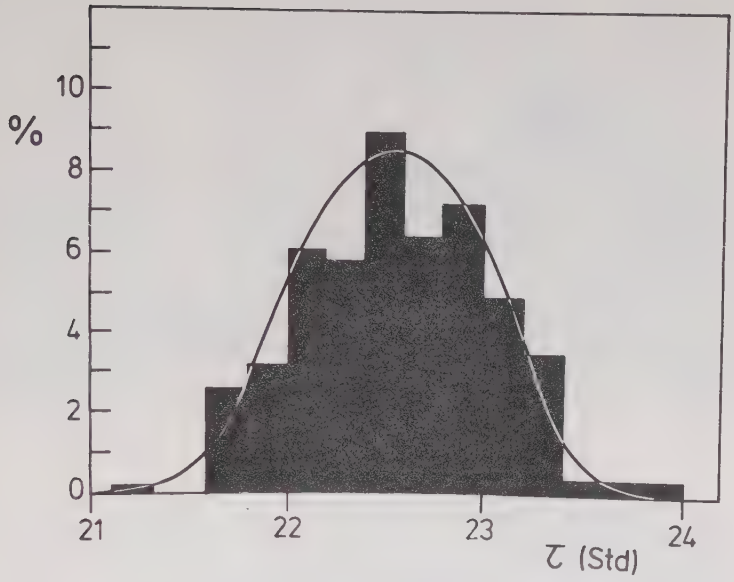

Abb. 7 Normalverteilung der Periodenlängen von einzelnen Drosophila-pseudoobscura-Fliegen um das Mittel von 22,5 Std. (172 Fälle).

gel (1959) widerspricht, wurde eine dritte Messung bei LL (weißes Licht, 500 $\mu W/cm^2$) durchgeführt, wobei die mittlere Periodenlänge 27,02 Std. (S.E. 1,88) beträgt, aber Periodenlängen bis zu 35 Std. auftraten und viele Tiere bereits ein arhythmisches Aktivitätsmuster zeigten (Abb.9).

Da die Tiere vor den Versuchen in der Zuchtkammer fast der gleichen Lichtstärke ausgesetzt waren, ist zu vermuten, daß sie sich auch dort arhythmisch verhalten und die Rhythmik erst durch den Übergang von LL nach

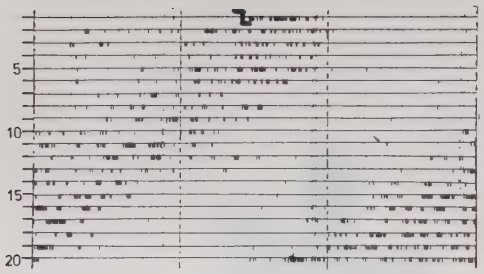

Abb. 8 Freilauf einer Drosophila-melanogaster-Fliege in RR über 20 Tage. Die Periodenlänge beträgt 22,8 Std.

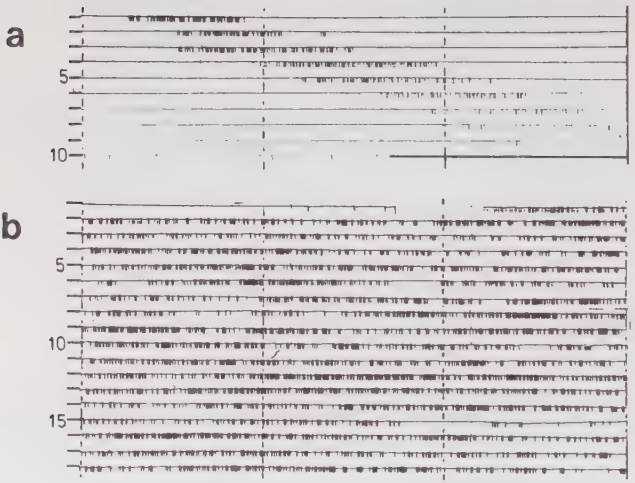

Abb. 9 a) Drosophila-melanogaster-Fliege, die in LL Freilauf mit 26,0 Std. Periodenlänge zeigt.
b) Drosophila-melanogaster-Fliege, die unter den gleichen Bedingungen bereits arhythmisch läuft.

Abb. 10 Freilauf einer Drosophila-pseudoobscura-Fliege unter Konstantbedingungen (22° C, 20 µW/cm² rotes Licht). Die Periodenlänge beträgt 22,1 Std. Der Übergang von LL nach RR fand bei der Markierung ↳ statt. Der Schlüpfzeitpunkt ist durch einen Pfeil ↓ gekennzeichnet. Das Aktogramm ist zur besseren Veranschaulichung verdoppelt. Die Verteilung der Aktivitätsbeginne in Bezug auf LL/RR (bzw. LL/DD) ist am oberen Rand des Aktogramms angefügt (vergl. Abb. 11).

DD gestartet wird. PITTENDRIGH fand bereits 1966, daß die Schlüpfrhythmik durch LL/DD induziert wird. Es fällt auf, daß die Tiere, sofern sie im adulten Zustand in DD gebracht werden, direkt nach dem Übergang Aktivität zeigen. Um herauszufinden, ob die Aktivitätsrhythmik eine ähnliche Abhängigkeit von LL/DD zeigt wie die Schlüpfrhythmik, wurden auf den Aktogrammen die Aktivitätsbeginne mit einer Geraden verbunden und diese bis zu dem Tag extrapoliert, an dem der LL/DD-Übergang stattfand. Hierbei stellte sich heraus, daß diese Gerade den Zeitpunkt von LL/DD sehr genau trifft (Abb. 10). Die gesamte

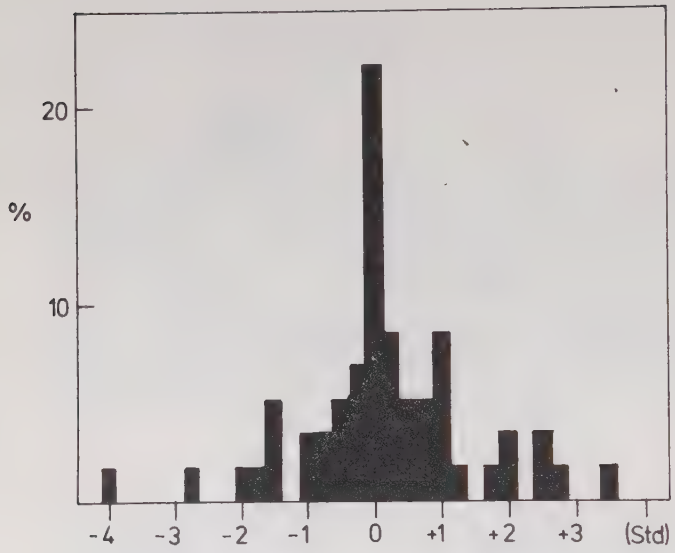

Abb. 11 Verteilung der Aktivitätsbeginne in Bezug auf LL/DD. Auf der Abszisse ist aufgetragen, um wieviel Stunden die in Abb. 10 gezeigte extrapolierte Gerade von LL/DD abweicht. 88% liegen innerhalb ±2 Std., 72% innerhalb ±1 Std. von LL/DD.

Schwankungsbreite beträgt ±4 Std., 88% liegen innerhalb ±2 Std., 72% innerhalb ±1 Std. von LL/DD (Abb. 11). Dies trifft auch für Tiere zu, die sich bei LL/DD noch in einem sehr frühen Puppenstadium befanden (Abb. 12).

Gelegentlich zeigten die Tiere mit zunehmendem Alter eine Verlängerung der Aktivitätszeit, eine Verlängerung der Periodenlänge oder sogar Daueraktivität, die mit Sicherheit nicht auf Wasserstreß beruhte (Abb. 6+13). Die Versuche wurden daher mit möglichst jungen Tieren durchgeführt.

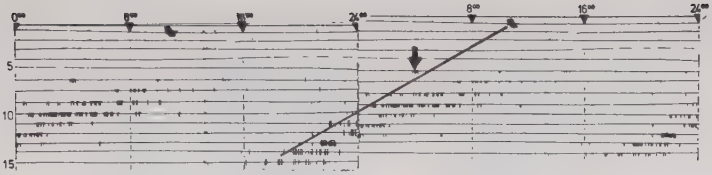

Abb. 12 Übertragung der Puppen in DD in einem frühen Stadium (hier 5 Tage vor dem Schlüpfen) zeigt, daß die Aktivitätsrhythmik und die Schlüpfrhythmik gleichzeitig in derselben Fliege mit verschiedenen Periodenlängen laufen. Dies wird dadurch offensichtlich, daß der Abstand zwischen Schlüpfzeitpunkt und erstem Aktivitätsbeginn mit zunehmender Zeit in DD immer kleiner wird. Das Aktogramm ist zur Veranschaulichung verdoppelt.

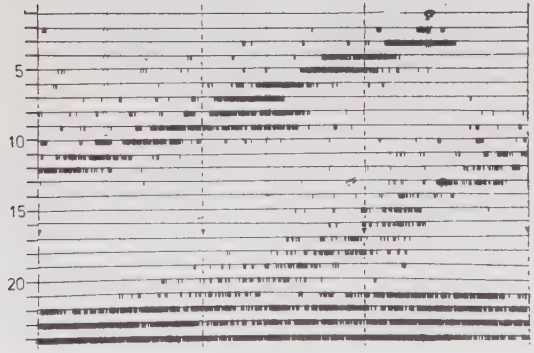

Abb. 13 Beispiel für ein Tier, das spontanes Auftreten von Daueraktivität zeigt. In diesem Fall kann Nahrungs- oder Wassermangel als Ursache ausgeschlossen werden.

II Laufaktivität im LD 12:12 und RD 12:12

Die Aktivität von Drosophila beschränkte sich im Wesentlichen auf die Lichtzeit eines LD-Wechsels. Die Tiere sind jedoch nach „Licht-aus" noch kurze Zeit (ca. ½ Std) aktiv. Ganz selten kommen auch einzelne Durchgänge durch die Lichtschranke während der Dunkelzeit vor.
Die Aktivität hat eine bimodale Verteilung, wobei das erste Maximum kurz nach „Licht-an", das zweite bei „Licht-aus" auftritt. Zwischen den Maxima, etwa in der Mitte der Lichtzeit, findet man sehr wenig, zum Teil gar keine Aktivität. Das erste Maximum ist wesentlich kleiner als das zweite. Es weist nur etwa die Hälfte der Aktivitätsmenge des zweiten Maximums auf (Abb. 14).

Wie bereits erwähnt, treten bei RR und DD unterschiedliche Werte der Periodenlänge auf. Um nun eindeutig abzuklären, ob die Tiere das rote Sicherheitslicht sehen, wurden sie zunächst mit LD 12:12 vorsynchronisiert und anschließend ein RD 12:12 angeboten, der zum LD um sechs Stunden verschoben war. Alle Tiere mit Ausnahme der augenlosen ließen sich sofort mit RD umsynchronisieren (Abb. 15).

Ein weiteres interessantes Phänomen zeigt sich, wenn man nach LD 12:12 DD anbietet. Hierbei tritt das erste Maximum nur noch einmal, selten zweimal und stark abgeschwächt auf, um dann völlig zu verschwinden, während sich das zweite Maximum in einem normalen Freilauf fortsetzt (Abb.14) So stellt sich das erste Maximum als ein sogenannter "masking effect", eine direkte Reaktion auf Licht heraus.

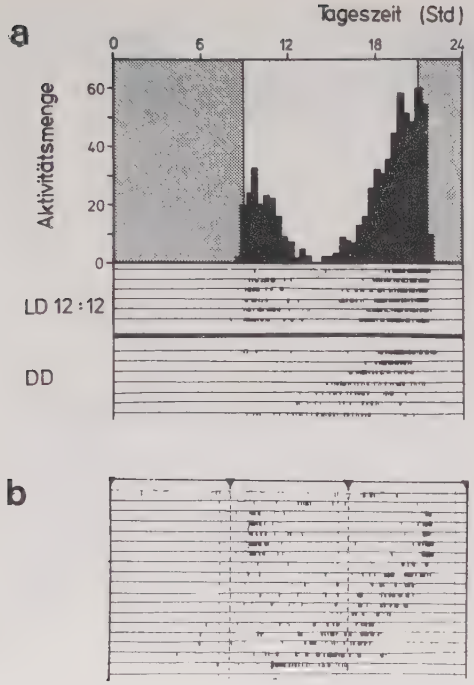

Abb. 14 a) oben: Laufaktivität einer Drosophila-pseudoobscura-Fliege in LD 12:12 (Lichtperiode von 9.00-21.00 Uhr) mit der Aktivitätsmenge (Summe aller Durchgängedurch die Lichtschranke pro 24 Min., gemessen über 6 Tage im LD).
unten: Aktogramm der Daten, die für den oberen Teil verwendet wurden (LD 12:12) und anschließender Freilauf (DD), in dem das erste Aktivitätsmaximum verschwindet. Die Periodenlänge des Freilaufs beträgt 22,8 Std.
b) Aktogramm einer Drosophila-melanogaster-Fliege in LD 12:12 und anschließender Freilauf in DD. Auch hier verschwindet das erste Aktivitätsmaximum in DD.

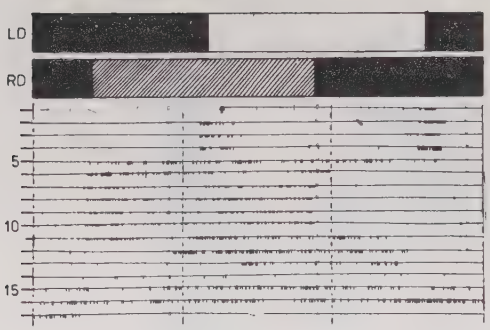

Abb. 15 Synchronisation einer Drosophila-melanogaster-Fliege. Zunächst wurde LD 12:12 (Tag 1-4), anschließend RD 12:12 (Tag 5-10) um 6 Std. nach vorne verschoben angeboten (Lage der Licht- bzw. Dunkelphasen sind im oberen Teil der Abbildung durch Balken angegeben: schwarz = Dunkelheit, weiß = weißes Licht, schraffiert = rotes Licht). Die Abbildung ist repräsentativ für Drosophila melanogaster, Drosophila pseudoobscura und alle Mutanten mit Ausnahme der augenlosen Tiere von sine oculis.

III Phasenresponsekurven

Ein wesentliches Charakteristikum für einen biologischen Oszillator ist die Phasenlage und die Form einer Phasenresponsekurve. Der Oszillator reagiert in einer für ihn typischen Weise auf Störungen, die von den Eigenschaften des Oszillators selbst und von den Eigenschaften der vor- und nachgeschalteten Prozesse (z.B. Photorezeptor, Laufaktivität) abhängig ist. Da die Schlüpfrhythmik von Drosophila schon eingehend untersucht worden ist (PITTENDRIGH 1964, 1966; WINFREE 1970, 1972, 1974), bot sich hier die Möglichkeit,

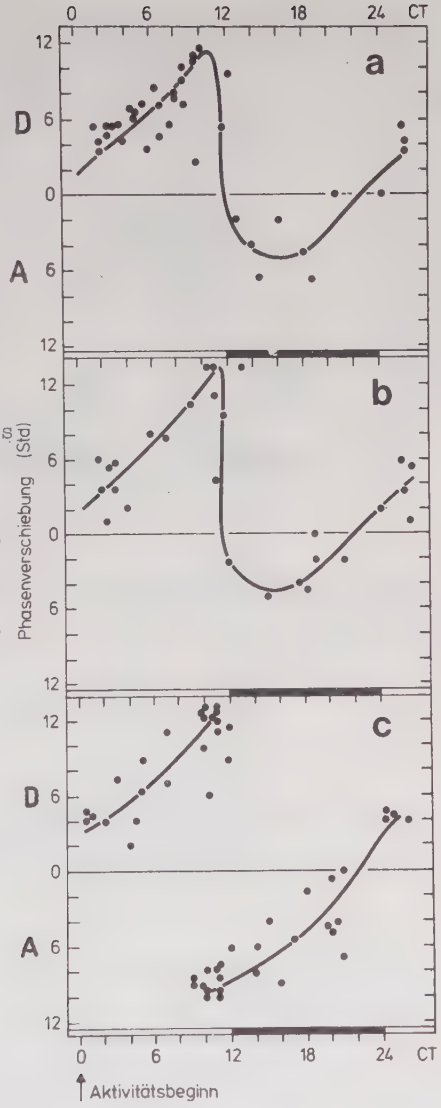

Abb.16 Phasenresponsekurven nach Lichtpulsen (3000 Lux weißes Licht) von 2 Std.(a), 3 Std. (b) und 12 Std.(c). Die Kurven a und b sind vom schwachen Typ mit einem Übergang von delay nach advance bei CT 12 und einem zweiten Nulldurchgang von advance nach delay bei CT 22. Kurve c ist vom starken Typ mit einem Phasensprung bei CT 11 und einem Nulldurchgang bei CT 22. Jeder Punkt stellt die Phasenverschiebung eines Tieres dar. Delays sind jeweils oberhalb der Nullinie, advances unterhalb der Nullinie aufgetragen. Die Freilaufperiode ist auf CT 24 normiert. Der helle Balken auf der Abszisse gibt den subjektiven Tag(=Aktivitätsphase) an, der dunkle Balken die subjektive Nacht.

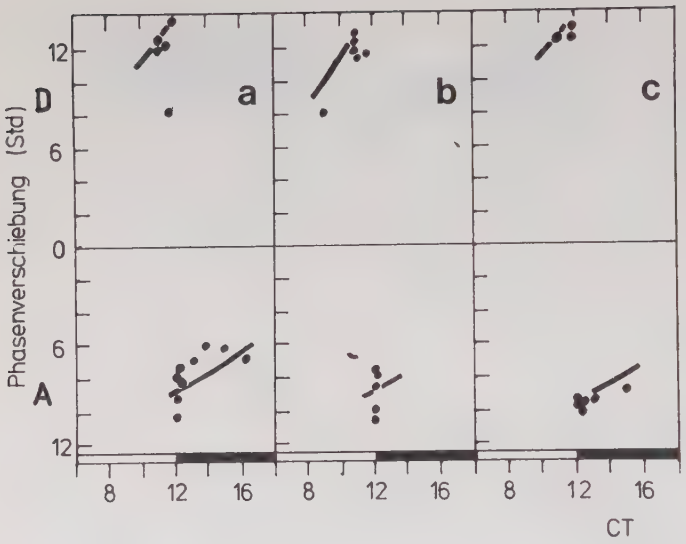

Abb. 17 Phasenresponsekurven wie in Abb. 16, jedoch für Lichtpulse von 3,25 Std. (a), 3,5 Std. (b), und 6 Std (c). Lichtpulse wurden hier, um das Verfahren abzukürzen, nur in dem kritischen Bereich von CT 10 bis CT 14 gegeben.

durch Phasenresponsekurven auf Lichtpulse herauszufinden, ob Drosophila evtl. verschiedene Oszillatoren für Schlüpfrhythmik und Laufaktivität besitzt.

Die Laufaktivitätsrhythmik hat überdies gegenüber der Schlüpfrhythmik mehrere Vorteile. Das Schlüpfen ist ein einmaliger Vorgang und nur in einer Population zu erfassen, während das adulte Tier mehrere Wochen lebt. Daher kann im Adultzustand die Periodenlänge jedes einzelnen Tieres unmittelbar festgestellt werden. Außerdem können einzelne Tiere mehrmals mit Licht bestrahlt werden, was eine gute

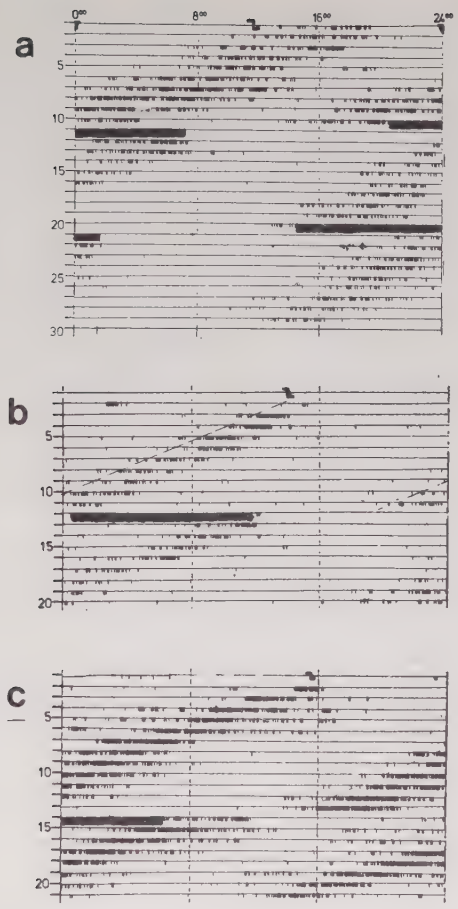

Abb. 18 Beispiele für Phasenverschiebungen an Drosophila pseudoobscura:
a) Verzögerungen (delays) nach Lichtpulsen von 12 Std.
b) Verfrühung (advance) nach einem Lichtpuls von 12 Std.
c) Verfrühung nach einem Lichtpuls von 6 Std.
Die schwarzen Balken stellen die Lichtpulse dar.

Kontrollmöglichkeit darstellt und die interindividuelle Variabilität vermeidet.

Es war aus Vorversuchen schon bekannt (BARTHE 1977), daß die Laufaktivitätsrhythmik wesentlich unempfindlicher auf Lichtpulse reagiert als die Schlüpfrhythmik. Deshalb wurden zunächst 12 Std.-Lichtpulse bei 3000 Lux verabreicht. Dies ergab eine Phasenresponsekurve vom starken Typ (WINFREE 1970). Die Kurve weist einen Phasensprung von delay nach advance bei CT 11 auf. Die delays erreichen in diesem Bereich die höchsten Werte mit etwa 13,5 Std., die advances sind mit 10,5 Std. geringfügig schwächer. Die Kurve hat also einen asymmetrischen Verlauf. Ein Nulldurchgang von advance nach delay tritt bei etwa CT 22 auf. Es treten in allen Phasenlagen, ausgenommen am Nulldurchgang, Verschiebungen nach Lichtpulsen auf. Die Kurve hat also keine sogenannte tote Zone (Abb. 16)

2 Std.- bzw. 3 Std.-Lichtpulse derselben Intensität führen zu schwachen Phasenresponsekurven, d.h. zu Kurven, die bei CT 12 keinen Phasensprung, sondern einen kontinuierlichen Übergang von delay nach advance aufweisen. Der asymmetrische Verlauf wird hier noch wesentlich deutlicher. Die Phasenresponsekurve auf 2 Std.-Lichtpulse zeigt advances von 5 Stunden und delays von 11,5 Stunden. Die Phasenresponsekurve auf 3 Std.-Lichtpulse deckt sich fast mit der auf 2 Std.-Lichtpulse, nur daß hier stärkere delays - bis zu 13,5 Std. - auftreten. Der zweite Nulldurchgang liegt wie bei der 12 Std.-Phasenresponsekurve bei CT 22.

Bei der Fragestellung, ob Drosophila pseudoobscura ein Multioszillatorsystem besitzt, war ein wichtiges Kriterium die Erzeugung von Arhythmie. Dies kann mit einer ganz bestimmten Störung S^* zur Phasenlage T^* bei der Schlüpfrhythmik erreicht werden, wobei T^* am Phasensprung von delay nach advance liegt und S^* gerade die Lichtmenge ist, bei der der Übergang von schwachen zu

starken Phasenresponsekurven stattfindet (WINFREE 1970).

Um diesen Übergang auch für die Laufaktivitätsrhyrhmik zu finden, wurden nun in der entsprechenden Phasenlage Lichtpulse von 3000 Lux und 6 Std, 3,5 Std und 3,25 Std Dauer gegeben (Abb. 17). So konnte der Übergang bei 3 Std 10 Min Lichtpulslänge gefunden werden. An diesem Punkt wurde wiederholt versucht, Arhythmie zu erzeugen, was jedoch in keinem Fall gelang.

Bezugspunkte für die Erstellung der Phasenresponsekurven waren der Aktivitätsbeginn, der gleich CT 0 gesetzt wurde, und die Pulsmitte als Referenz für die Phasenlage des Pulses, da nur dann die Phasensprünge bzw. Nulldurchgänge der einzelnen Kurven miteinander zur Deckung gebracht werden konnten.

Die Tiere zeigten nach Lichtpulsen eine sofortige Reaktion, d.h. die Phasenverschiebung erreichte bereits am Tage nach dem Puls den endgültigen Wert. Es waren also keine Transients festzustellen (Abb. 18).
Gelegentlich traten nach Lichtpulsen veränderte Periodenlängen auf. Es konnte jedoch keine Korrelation zwischen τ vorher und τ nachher festgestellt werden.

IV Versuche an der Mutante Drosophila melanogaster sine oculis

Es ist in den letzten Jahren verschiedentlich gelungen, circadiane Oszillatoren in Insekten zu lokalisieren. So konnte PAGE (1978) zeigen, daß bei Leucophaea maderae die Oszillatoren für die Laufaktivität paarig in den Lobi optici, genauer am ventralen Rand der Lobula sitzen. Ein unter

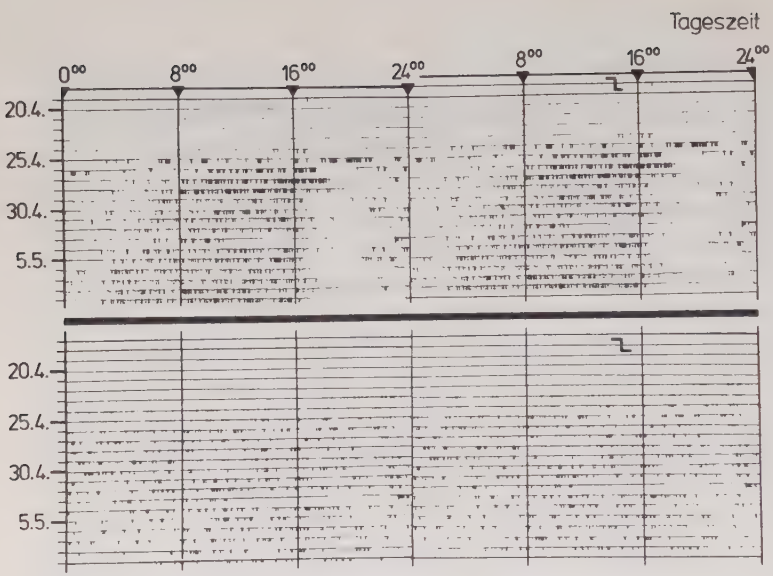

Abb. 19 Aktogramme von Drosophila melanogaster sine oculis. Das obere Aktogramm, das von einem Tier mit Augenresten stammt, zeigt noch eine deutliche Rhythmik. Das untere Aktogramm stammt von einem gänzlich augenlosen Tier. Es zeigt ein diffuses Aktivitätsmuster, bei dem bei Auswertung mit einer Schablone keine Rhythmik mehr festgestellt werden kann. Übergang von LL nach DD bei ↴

diesem Aspekt sehr interessantes Objekt ist die augenlose Mutante sine oculis, da die Mutation auch einen Teil des Lobus opticus beeinträchtigt. Erste Aktogramme zeigten, daß nach optischer Beurteilung (d.h. Ausmessen der Periodenlängen mittels einer Schablone) rhythmische und arhythmische Fälle auftraten. Die rhythmischen Tiere verhalten sich, was die Ausprägung der Laufaktivität anbelangt, wie die Wildform, während die arhythmischen Tiere ein diffuses Aktivitätsmuster aufweisen, das sich weder nach dem Übergang von LL nach DD noch nach Lichtpulsen richtet (Abb. 19).

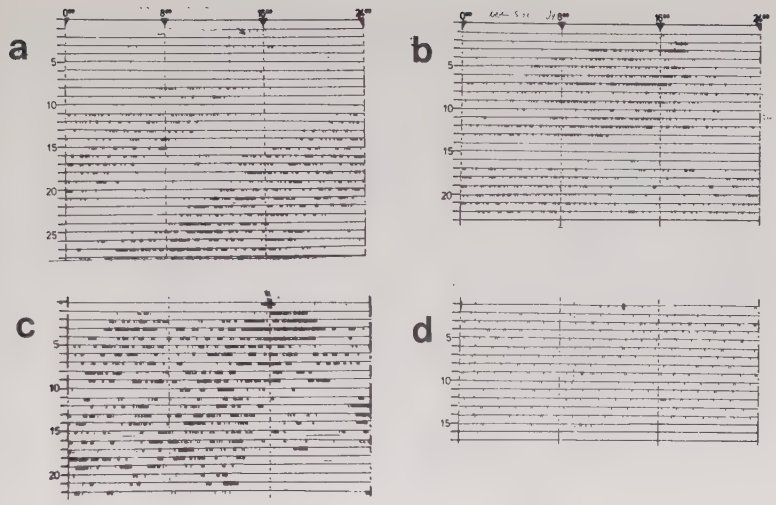

Abb. 20 Aktogramme von Drosophila melanogaster sine oculis mit unterschiedlicher Ausbildung der Komplexaugen und daraus resultierend unterschiedlichen Aktivitätsrhythmen.
a) Tier mit vollständig ausgebildeten Augen und normaler Rhythmik. Die Periodenlänge beträgt 23,0 Std.
b) Augenloses Tier mit relativ schlechter Rhythmik, aber einer signifikanten Periodenlänge von 23,45 Std.
c) Augenloses Tier mit zwei signifikanten Periodenlängen von 23,65 Std und 24,4 Std.
d) Augenloses, völlig arhythmisches Tier.

In weiteren Versuchen wurden nun diese Aktogramme mittels einer Zeitreihenanalyse (Timesdia, MARTIN u.a. 1977) eingehender untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß man eine Aufteilung in 4 Gruppen vornehmen kann (Abb. 20 a-d):

1. Tiere mit normal ausgebildeten oder nur teilweise reduzierten Augen, die eine der Wildform entsprechende Aktivitätsrhythmik aufweisen.

2. Augenlose Tiere, die zwar zum Teil undeutliche Aktivitätsmuster, aber trotzdem eine signifikante Periodenlänge zeigen.
3. Augenlose Tiere, die 2 bis 3 signifikante, unterschiedliche Periodenlängen aufweisen und
4. Augenlose Tiere, bei denen tatsächlich arhythmische Aktivitätsmuster auftreten.

Dabei fällt auf, daß im RR die 1. Gruppe mit ganz oder teilweise ausgebildeten Augen eine mittlere Periodenlänge von $\tilde{\tau}$ = 23,47 Std (S.E.= 0,31), die augenlosen Tiere jedoch $\tilde{\tau}$ = 24,57 Std (S.E.= 0,23), also eine signifikant höhere Periodenlänge aufweisen. Hierbei wurden für die Berechnung von $\tilde{\tau}$ sämtliche augenlosen Tiere und bei solchen mit mehreren verschiedenen Periodenlängen alle τ herangezogen. Wenn man bei den augenlosen Tieren jedoch nur die kürzesten Periodenlängen in Betracht zieht, so erhält man ein mittleres $\tilde{\tau}$ von 24,13 Std (S.E.= 0,33). Berechnet man das Mittel aus den 2. und 3. Periodenlängen, so ergibt sich $\tilde{\tau}$ = 25,15 Std (S.E.= 0,08). Man findet also, daß sich die ersten Periodenlängen nicht mehr signifikant von denen der Tiere mit Augen bzw. von der Wildform unterscheiden. Die 2. und 3. Periodenlängen dagegen unterscheiden sich deutlich von beiden Gruppen.

V Versuche an den Mutanten $\underline{Ly^3}$ und $\underline{Jk\ 84}$ im Vergleich mit der Wildform

Unter dem Gesichtspunkt, daß sich der Oszillator für die Laufaktivitätsrhythmik evtl. im Lobus opticus befindet, wurde eine weitere Versuchsreihe mit den Mutanten $\underline{Ly^3}$ (sevenless) und $\underline{Jk\ 84}$ (outer rhabdomeres absent) im Vergleich zur Wildform durchgeführt. Diese Mutanten können aufgrund ihrer Veränderungen im Komplexauge und der Verschaltung der Nervenableitungen im Lobus opticus dazu beitragen, den Sitz des Oszillators näher einzukreisen. Da bei den beiden Mutanten

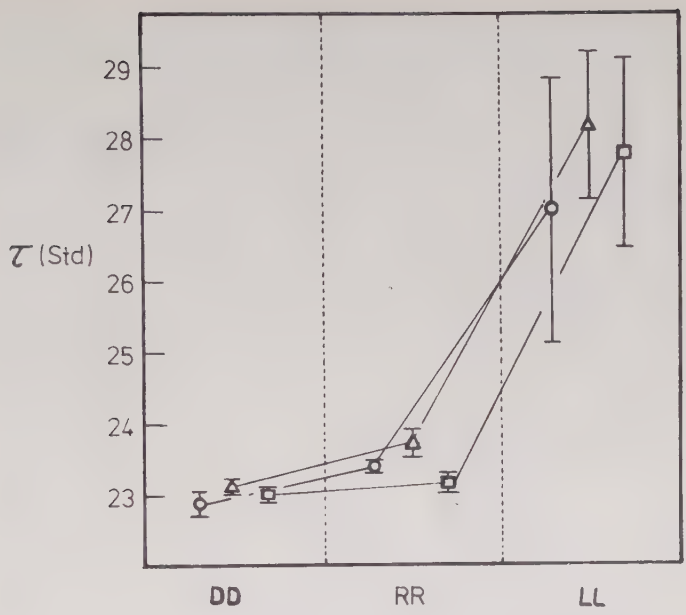

Abb. 21 Periodenlängen von Drosophila melanogaster Wildform (○), Ly^3 (△), und Jk 84 (□) in DD, RR und LL. Die Fehlerbalken geben den doppelten Standardfehler (=Signifikanzgrenze) an. Die Periodenlängen unterscheiden sich nur in RR (20 $\mu W/cm^2$) signifikant voneinander.

entweder das Tagsystem (Ly^3) oder das Nachtsystem (Jk 84) defekt ist und das Nachtsystem (Rhabdomere 1-6) Synapsen in der Lamina und der Medulla hat, wogegen das Tagsystem (Rhabdomere 7+8) die Lamina umgeht und nur Synapsen in der Medulla hat, lassen sich evtl. Aussagen über die Lamina als möglichen Sitz für den Oszillator treffen.

Es wurden zunächst die Periodenlängen der Mutanten im RR bestimmt. Die Wildform hat hier, wie bereits erwähnt, ein τ von 23,38 Std.(S.E.= 0,05), die Mutante $\underline{Ly^3}$ ein τ von 23,71 Std.(S.E.= 0,10) und die Mutante $\underline{Jk\ 84}$ ein τ von 23,14 Std. (S.E.= 0,07), die alle signifikant voneinander unterschieden sind. Die Periodenlängen wurden anschließend bei anderen Lichtverhältnissen (500 $\mu W/cm^2$, weißes Licht) noch einmal bestimmt. Bei dieser Lichtintensität ist man offenbar schon dicht an der Sättigungsgrenze, da ein Teil der Tiere bereits arhythmisch läuft. Der Rest zeigt eine sehr große Streuung der Periodenlängen (25 bis 35 Std.)(Abb. 9). Berechnet man sämtliche Werte, so erhält man für die Wildform τ = 27,02 Std.(S.E.=1,88), für Ly^3 τ = 28,21 Std.(S.E.=1,01) und für Jk 84 τ = 27,73 Std.(S.E.=1,33). Es gibt also bei dieser hohen Lichtintensität keine signifikanten Unterschiede mehr.

Da eine klare Abhängigkeit der Periodenlängen einerseits und der Unterschiede zwischen den einzelnen Periodenlängen andererseits von der Lichtintensität besteht, wurde in einem dritten Versuch τ bei DD gemessen. Hier findet man für die Wildform τ = 22,9 Std.(S.E.=0,08), für $\underline{Ly^3}$ τ = 23,11 Std. (S.E.=0,10) und für $\underline{Jk\ 84}$ 23,02 Std.(S.E.=0,07), also keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen der Wildform und den Mutanten. (Abb. 21).

Wenn man die Tiere von LL nach DD bringt, dann zeigt sich, daß die Wildform und die Mutanten unterschiedliche Phasenbeziehungen zum LL/DD-Übergang haben. So ist das erste Aktivitätsmaximum am Tag nach LL/DD bei der Wildform 17,91 Std. (S.E.=0,39) nach LL/DD. Die Werte für $\underline{Ly^3}$ und $\underline{Jk\ 84}$ betragen 20,72 Std.(S.E.=0,71) bzw. 18,5 Std.(S.E.=0,67). Die Mutante $\underline{Drosophila\ melanogaster\ white}$,die ebenfalls zu diesem Versuch herangezogen wurde, weist ebenfalls einen von der Wildform unterschiedlichen Wert auf, nämlich 19,5 Std.(S.E.=0,57). Wenn man den doppelten Standardfehler als Signifikanzgrenze heranzieht, besteht allerdings nur zwischen der Wildform und $\underline{Ly^3}$ ein Unterschied, die übrigen Werte unterscheiden sich nicht mehr signifikant.

VI Auswirkung von LiCl, KCl und RbCl auf die circadiane Rhythmik von Drosophila

Es ist schon seit längerem bekannt, daß Lithium-Salze einen verlängernden Effekt auf die Periodenlänge der circadianen Rhythmik haben. Dies konnte für Pflanzen (ENGELMANN 1972) und für Insekten und Säugetiere (ENGELMANN 1973, HOFMANN u.a. 1978) nachgewiesen werden.
In einer letzten Versuchsreihe sollte nun untersucht werden, welche Wirkung die Chloride der Alkali-Metalle Lithium, Kalium und Rubidium auf die circadiane Periodik von Drosophila melanogaster haben.
In einem Vorversuch wurde einigen Tieren LiCl im Trinkwasser als 0,5 mM Lösung als Dauergabe verabreicht. Dies hatte bei einem Teil der Tiere keinen Effekt, Bei einigen anderen trat jedoch ein zweites Aktivitätsmaximum auf, das 180° zum ersten Maximum liegt (Abb. 22).
Daraufhin wurde die Dosis auf 1,0 mM erhöht. Bei dieser Konzentration traten die zweiten Maxima merkwürdigerweise nicht mehr so deutlich auf. Dafür konnten jetzt Verlängerungen der Periodenlängen festgestellt werden, die zwischen 0 und 1,7 Std. liegen ($\Delta\bar{\tau}$ =0,422 Std.) (Abb. 22).
Rubidium hatte in einem Vorversuch, in dem RbCl als 5,0 mM Lösung angeboten wurde, ebenfalls einen verlängernden Effekt. Außerdem wurde bei einigen Tieren eine phasenverschiebende Wirkung beobachtet (Abb. 23). In einem weiteren Versuch wurde RbCl in 2,0 mM Lösung als Dauergabe verabreicht. Es traten Verlängerungen von bis zu 3,25 Std (Abb. 23) und ein Fall von Verkürzung um 0,25 Std. auf ($\Delta\bar{\tau}$ = 0,63 Std.).
Zuletzt wurde die Wirkung von Kalium untersucht. Hierfür wurde den Tieren zunächst Kalium-freie Diät und danach eine 2,0 mM KCl-Lösung verabreicht. Es trat eine Verkürzung der Periodenlänge bis zu 0,7 Std. auf ($\Delta\bar{\tau}$ = 0,25 Std.) (Abb. 24).
Die Signifikanz aller Veränderungen der Periodenlänge wurde mit dem Wilcoxon Matched-Pairs Signed-Ranks Test berechnet (WILCOXON 1949).
Außerdem wurde KCl in einem 5 Std.-Puls als 50 mM-Lösung an-

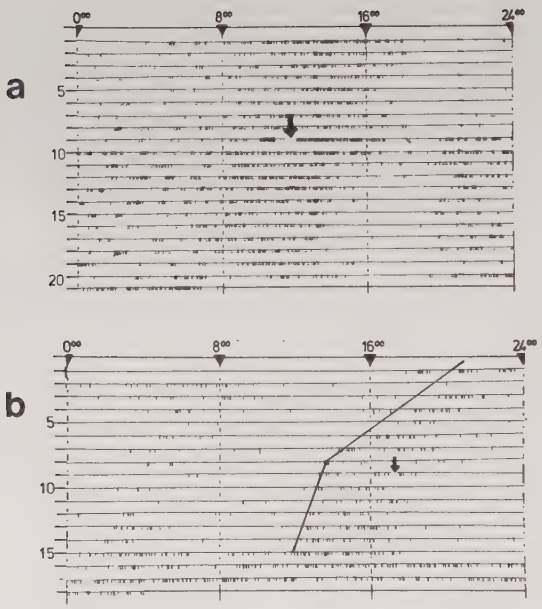

Abb. 22 Die Wirkung von Lithium auf die Aktivitätsrhythmik von Drosophila melanogaster.
a) Nach Verabreichung von 0,5 mM-Lösung LiCl (Pfeil⬇) tritt ein zweites Aktivitätsmaximum auf.
b) Bei 1,0 mM findet man eine deutliche Periodenverlängerung (hier von 23,4 Std. auf 23,8 Std.).

geboten. Dabei zeigte ein Teil der Tiere keine Reaktion, aber es traten Phasenverschiebungen bis zu 4 Std. auf (Abb. 24).

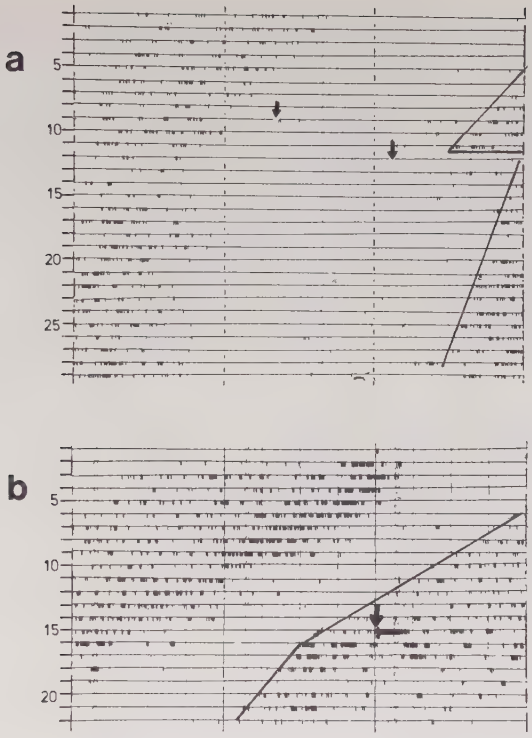

Abb. 23 Die Wirkung von Rubidium auf die Aktivitätsrhythmik von Drosophila melanogaster.
a) 5,0 mM-Lösung wurde ca. 3 Tage lang angeboten (Pfeile). Es tritt sowohl Periodenverlängerung als auch eine Phasenverschiebung auf.
b) Bei Verabreichung von 2,0 mM als Dauergabe (Pfeil) tritt Periodenverlängerung auf (in diesem Fall von 23,0 Std. auf 23,5 Std.).

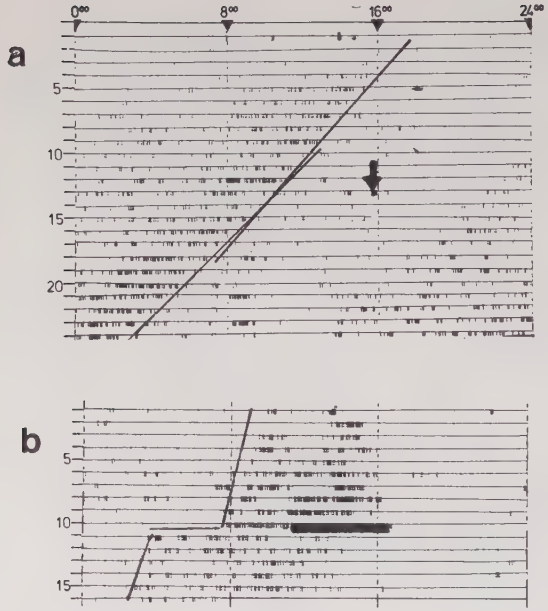

Abb. 24 Die Wirkung von Kalium auf die Aktivitätsrhythmik von Drosophila pseudoobscura.
a) Verabreichung von 2,0 mM-Lösung KCl nach Kalium-freier Diät (Pfeil) führt zu Periodenverkürzung (hier von 23,35 Std. auf 23,2 Std.).
b) Ein 5-stündiger Puls mit 50 mM-Lösung KCl führt zu advances (bei diesem Tier ca. 4 Std.).

D DISKUSSION

Teil 1: Vergleich zwischen Schlüpfrhythmik und Laufaktivitätsrhythmik

Ausgangspunkt für die Arbeit war die Frage, ob Drosophila ein Multioszillatorsystem besitzt, das sich dadurch äußert, daß verschiedene einer tagesrhythmischen Schwankung unterworfene Prozesse von speziellen Oszillatoren mit unterschiedlichen Eigenschaften gesteuert werden. Diese Frage erscheint zunächst müßig, da jeder Einzeller in der Lage ist, Zeit zu messen und daher ein vielzelliger Organismus entsprechend viele Uhren aufweisen sollte. Es konnten jedoch sowohl in vielzelligen wie auch in einzelligen Organismen Oszillatoren mit ganz unterschiedlichen Eigenschaften nachgewiesen werden, so daß die Frage nach dem Multioszillatorsystem berechtigt erscheint.

Wenn man bei Drosophila die Eigenschaften der Laufaktivitätsrhythmik mit denen der Schlüpfrhythmik vergleicht, findet man folgendes (vergl. ENGELMANN u. MACK 1978):

- Die Intensität und Länge eines Lichtpulses muß für die Laufaktivität etwa zwei Größenordnungen stärker sein, um ähnlich starke Phasenverschiebungen zu erzeugen wie bei der Schlüpfrhythmik.
- Der Verlauf der Phasenresponsekurve ist nicht derselbe wie bei der Schlüpfrhythmik. So findet man keine tote Zone (Bereich ohne Phasenverschiebungen) über mehrere Stunden innerhalb eines circadianen Zyklus, wie das bei der Schlüpfrhythmik der Fall ist. Licht erzeugt mit Ausnahme der Nulldurchgänge zu allen Phasenlagen Phasenverschiebungen.
- Weiterhin zeigt die Phasenresponsekurve der Laufaktivitätsrhythmik stärkere delays als advances, also einen asymmetrischen Verlauf, während die Phasenresponsekurve der Schlüpfrhythmik symmetrisch ist.
- Der Übergang von delay nach advance tritt bei den bei-

den Rhythmen zu unterschiedlichen Phasenlagen auf. Er liegt für die Schlüpfrhythmik bei CT 18 und für die Laufaktivitätsrhythmik etwa bei CT 12.

- Die Periodenlängen der beiden Rhythmen sind verschieden. Sie liegen für die Schlüpfrhythmik im Mittel bei 23,8 Std., für die Laufaktivitätsrhythmik bei 22,5 Std.
- Die Periodenlänge der Laufaktivitätsrhythmik steigt bei steigender Lichtintensität, während sie bei der Schlüpfrhythmik fällt (PITTENDRIGH u. WEISS, unveröffentl.).

Alle diese Ergebnisse zusammengenommen deuten auf das Vorhandensein von verschiedenen Oszillatoren für die zeitliche Kontrolle der verschiedenen Vorgänge hin. Sie könnten jedoch auch so erklärt werden, daß ein Oszillator beide Rhythmen steuert, wobei allerdings einige komplizierende Zusatzannahmen gemacht werden müßten. So könnte z.B. die unterschiedliche Lichtempfindlichkeit der Puppen und der adulten Tiere durch ein Filter erklärt werden, das die Lichtintensität, die den Photorezeptor erreicht, stark reduziert. Eine andere Möglichkeit wäre die Beteiligung von verschiedenen Photorezeptoren für die Schlüpf- und Laufaktivitätsrhythmik. Phasenresponsekurven können als Mechanismen zur Synchronisation des Oszillators auf 24 Std.-Perioden erklärt werden (PITTENDRIGH u. MINIS, 1964). Ein nachtaktives Tier wie Leucophaea maderae würde normalerweise kein Licht in seiner Aktivitätsphase erwarten. Wenn es hier durch Licht gestört wird, reagiert es mit Phasenverschiebungen so, daß der eigene Rhythmus an den offenbar veränderten Licht-Dunkel-Wechsel angepaßt wird. Ein tagaktives Tier steht jedoch vor demselben Problem und man würde eine in Form und Phasenlage ähnliche Phasenresponsekurve erwarten. Dies wurde unter anderem für Spatzen gefunden (ESKIN, 1971).

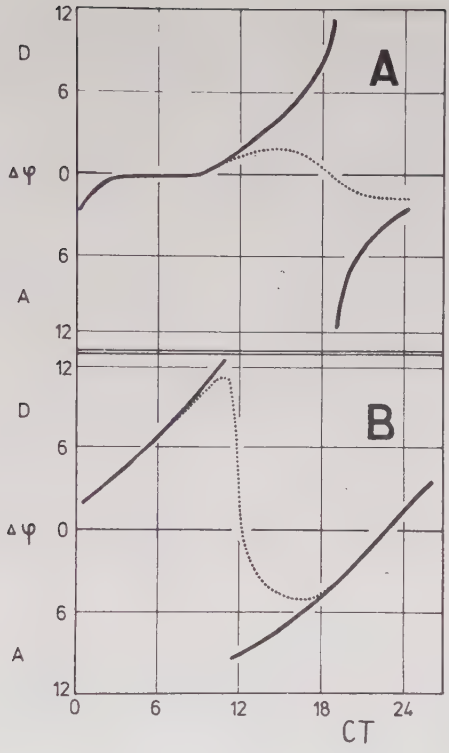

Abb. 25 Vergleich zwischen den Phasenresponsekurven auf Lichtpulse der Schlüpfrhythmik (A) und der Laufaktivitätsrhythmik (B). Delays sind jeweils über der Nullinie, advances unter der Nullinie aufgetragen.
Teil A: Starke Phasenresponsekurve nach Lichtpulsen von 55 Sek. blaues Licht (100 $\mu W/cm^2$, durchgezogene Linie), schwache Phasenresponsekurve nach Lichtpulsen von 25 Sek. (gepunktete Linie). Nach WINFREE (1970), verändert
Teil B: Phasenresponsekurve vom starken Typ nach Lichtpulsen von 12 Std. (3000 Lux, weißes Licht, durchgezogene Linie) und vom schwachen Typ nach Lichtpulsen von 2 Std. (gepunktete Linie).
Form und Phasenlage der Kurven von Schlüpf- und Aktivitätsrhythmik sind verschieden.

Ob ein Tier tag- oder nachtaktiv ist, scheint also für die Lage der Phasenresponsekurve keine Bedeutung zu haben. Bei Drosophila findet man jedoch unterschiedliche Phasenlagen für die Übergänge von delay nach advance für Schlüpf- und Laufaktivitätsrhythmik. Diese merkwürdige Reaktion könnte etwas mit der Lebensweise der Tiere zu tun haben, oder es könnte sich um unterschiedliche Arten der Synchronisation auf den Tag- Nachtwechsel bei Puppen und adulten Tieren handeln. PITTENDRIGH und DAAN (1975) berichten, daß die Größe der Phasenwinkeldifferenz eines Oszillators zu seinem Zeitgeber davon abhängig ist, wie nahe sich die endogene Periodenlänge des Oszillators bei 24 Std. befindet. Dadurch könnte evtl. auch die Lage einer Phasenresponsekurve beeinflußt werden. Die Tatsache, daß diese Erklärung auf dem Vorhandensein von verschiedenen Periodenlängen beruht, würde allerdings für die Existenz von verschiedenen Oszillatoren sprechen (WEVER 1962, 1963; s. Seite 46).

Die unterschiedlichen Positionen der Phasenresponsekurven könnten natürlich auch eine Frage des Bezugspunktes sein. Ich habe den gleichen Bezugspunkt wie PITTENDRIGH verwendet, der CT 12 gleich dem Beginn der Dunkelheit und CT 0 einen halben Zyklus später, also bei Beginn der Lichtphase setzt. Bei dieser Methode liegt der Phasensprung von delay nach advance für die beiden Rhythmen etwa 8 Std. auseinander. Dieser Unterschied könnte nun immer noch durch einen Oszillator erklärt werden, wenn das entsprechende Signal auf dem Weg vom Rezeptor zum Oszillator bei der Schlüpfrhythmik 8 Std. länger unterwegs wäre als bei der Laufaktivitätsrhythmik.

Eine andere, wesentlich einfachere Erklärung besteht jedoch darin, daß die Definition von CT 0 gleich Aktivitätsbeginn für die Laufaktivitätsrhythmik nicht zutreffend ist. Wenn man den Beginn des zweiten Aktivitätsmaximums im

LD 12:12 (Abb.14) als Bezugspunkt heranziehen würde, würde sich die Phasenresponsekurve für die Laufaktivität um etwa 8 Std. nach rechts verschieben und mit derjenigen für die Schlüpfrhythmik zur Deckung kommen. Dies würde allerdings bedeuten, daß das erste Maximum der Laufaktivität im LD nicht durch einen Oszillator bewirkt wird, sondern eine sogenannte Maskierung durch Licht darstellt, und daß das Schlüpfen eine andere Phasenbeziehung zum LD-Wechsel hat, falls beide Rhythmen vom gleichen Oszillator gesteuert würden. Der untere Teil von Abb. 14 zeigt, daß diese Interpretation richtig sein könnte. Drosophila pseudoobscura-Fliegen wurden vom LD 12:12 in DD gebracht. Das erste Maximum, das für synchronisierte Tiere charakteristisch ist (siehe auch HARDELAND 1972; TAUBER u. HARDELAND 1977), verschwindet und nur das zweite bleibt übrig.
Die verschiedenen Periodenlängen könnten durch ein Schnellerwerden des Oszillators nach dem Schlüpfvorgang erklärt werden.

Es ist allerdings bei den vorliegenden Ergebnissen einfacher und logischer, die Verhältnisse bei Drosophila pseudoobscura mit zwei verschiedenen Oszillatoren zu erklären. Die Schlüpfrhythmik zeigt bei einem Übergang von LL nach DD ein zeitliches Auftreten der Schlüpfmaxima von 15 Std. bzw. 15 Std. + n • 24 Std. nach Dunkelbeginn. Wenn das Schlüpfen von einem Oszillator mit ca. 24 Std.Periodenlänge, die Laufaktivität aber von einem Oszillator mit 22,5 Std. Periodenlänge kontrolliert wird, dann müßten die Aktivitätsbeginne entsprechend den Tagen in DD n • 1,5 Std. früher auftreten. Falls jedoch beiden Rhythmen nur ein Oszillator zugrunde liegen sollte, müßte man eine konstante Zeitspanne zwischen dem Schlüpfzeitpunkt und dem Beginn des ersten Aktivitätsmaximums finden. Die Ergebnisse zeigen ein-

deutig, daß die erste Erklärungsmöglichkeit die richtige ist. Wie in Abb.12 zu sehen ist, tritt der erste Aktivitätsbeginn um so früher auf, je länger sich die Tiere im Puppenstadium in DD befanden. Das heißt, daß in Drosophila tatsächlich zwei Oszillatoren gleichzeitig und mit unterschiedlicher Periodenlänge laufen. Das Doppelmaximum der Laufaktivität der adulten Tiere im LD 12:12 könnte evt. darauf hindeuten, daß der Schlüpfoszillator sich auch auf die Laufaktivität der adulten Tiere auswirken kann. Dies könnte man dadurch testen, daß man Stämme mit unterschiedlichen Periodenlängen der Schlüpfrhythmik (KONOPKA u. RENZER 1971) auf die Lage dieses ersten Maximums hin untersucht. Die Phasenbeziehung dieses Maximums zum LD müßte sich mit der Periodenlänge verändern (PITTENDRIGH u. DAAN 1975).

Beide Oszillatoren sind offenbar mit verschiedenen Photorezeptoren verbunden. So bleibt die Auslösung der Schlüpfrhythmik auch bei der augenlosen Mutante Drosophila melanogaster sine oculis nach einem Übergang von LL nach DD erhalten (ENGELMANN u. HONEGGER 1967).
Meine Untersuchungen dieser Mutante im Hinblick auf die Laufaktivität haben gezeigt, daß bei totaler Reduktion der Augen sich auch das Aktivitätsmuster verändert. Es können dann zwei oder sogar drei verschiedene, sich überlagernde Periodenlängen bei einem Tier auftreten oder aber die Tiere sind völlig arhythmisch. So lange jedoch Augenreste vorhanden sind, wird auch eine normale, der Wildform entsprechende Rhythmik aufrecht erhalten.

Ein weiterer Unterschied zwischen der Schlüpf- und der Laufaktivitätsrhythmik besteht darin, daß man bei letzterer offenbar keine Arhythmie erzeugen kann. Man bekommt zwar starke und schwache Phasenresponsekurven

auf Lichtpulse. Arhythmie sollte nach einem Lichtpuls auftreten, der etwas kürzer als der für eine starke Response, aber etwas länger als der für eine schwache Response benötigte ist (WINFREE 1970 a, b). Es konnte jedoch kein Anzeichen für Arhythmie oder eine andere Veränderung der Laufaktivität (z.B. Amplitudendämpfung) gefunden werden. Ähnliches berichtet WIEDENMANN (1978) von der Schabe Leucophaea maderae. Er konnte ebenfalls keine Arhythmie bei der Laufaktivität dieser Tiere finden. Man könnte also zu dem Schluß kommen, daß die Arhythmie bei der Schlüpfrhythmik nur einen Populationseffekt darstellt, bei dem die individuellen Oszillatoren nur asynchron, aber nicht arhythmisch weiterlaufen. WINFREE (1970 b, 1973) konnte jedoch nachweisen, daß sich tatsächlich jeder Einzeloszillator arhythmisch verhält. PETERSON (im Druck) berichtet von Versuchen an der Mücke Culex pipiens, daß nach geeigneten Störungen Arhythmie bei einzelnen Tieren aufgetreten ist. Eine Erklärungsmöglichkeit für diese gegensätzlich erscheinenden Ergebnisse könnte darin liegen, daß das Verhalten eines Oszillators bezüglich der Erzeugung von Arhythmie sehr charakteristisch ist, d.h. daß Oszillatoren, die sich in grundlegenden Eigenschaften wie Periodenlänge, Phasenresponsekurven usw. unterscheiden, wahrscheinlich auch hier in anderer Weise reagieren. Eine Auswirkung hiervon könnte sein, daß ein Oszillator sehr leicht, ein anderer dagegen sehr schwer oder überhaupt nicht arhythmisch gemacht werden kann. Man könnte auch vermuten, daß der arhythmische Zustand zwar in jedem Fall erreicht wird, jedoch bei den einzelnen Oszillatoren unterschiedlich lange aufrechterhalten wird. Wenn die Zeitspanne, während der sich ein Oszillator in diesem singulären Zustand befindet, sehr kurz und die normale Schwingung sehr bald wiederhergestellt ist, kann man die Arhythmie bei der hier ange-

wandten Methode nicht mehr direkt auf dem Aktogramm ablesen. Allerdings müßten, wenn wirklich Arhythmie erreicht worden wäre, die Phasenlagen nach dem Lichtpuls stark variieren. Da dies bei der Laufaktivitätsrhythmik von Drosophila pseudoobscura nicht der Fall ist, kann man davon ausgehen, daß tatsächlich keine Arhythmie aufgetreten ist.

Es gibt mittlerweile bei zahlreichen Organismen genügend Hinweise für die Existenz von Multioszillatorsystemen. Für Insekten wurde Entsrechendes von MINIS und PITTENDRIGH (1963) bei der photoperiodischen Reaktion und der Eiablage von Pectinophora berichtet. WIEDENMANN (1978) fand, daß verschiedene Oszillatoren für die Kutikularrhythmik und die Laufaktivitätsrhyhtmik von Leucophaea maderae vorhanden sein müssen. KOEHLER und FLEISSNER (1978) fanden zwei voneinander unabhängige Oszillatoren in den Komplexaugen des Käfers Blaps. Dasselbe gilt auch für Schaben (NISHIITSUTSUJI-UWO u. PITTENDRIGH 1968 a, b) und viele andere Tiere.

Auch bei Pflanzen wurden entsprechende Ergebnisse erzielt. So zeigt Phaseolus bei der Bewegung verschiedener Blattgelenke eines Blattes unter Konstantbedingungen verschiedene Periodenlängen und unterschiedliche Lichtempfindlichkeit (MAYER u. SADLEDER 1972). BOLLIG (1975) fand bei Pharbitis nil verschiedene Oszillatoren für die photoperiodische Blühinduktion und die Rhythmik der Blattbewegungen.

Das Auftreten von Splitting wird als Ausdruck dafür gewertet, daß mehrere Oszillatoren die Laufaktivität kontrollieren (PITTENDRIGH 1966, 1967; PITTENDRIGH u. DAAN 1976; HOFFMANN 1970, 1971).

ASCHOFF (1969, 1973) und WEVER (1975) fanden interne Dissoziation und Desynchronisation von tagesrhythmischen Prozessen im Menschen, was ebenfalls mit einem Multioszillatorsystem erklärt wird. Man sieht, daß das Vorhan-

densein mehrerer Oszillatoren innerhalb eines Organismus wohl eher die Regel als die Ausnahme darstellt.

Die Antwort auf die Frage, warum Drosophila zwei verschiedene Oszillatoren für die Kontrolle des Schlüpfens und der Laufaktivität verwendet, liegt wahrscheinlich in der Lebensweise dieser Tiere.
Die ganz nahe bei 24 Std. liegende Periodik des Schlüpfens ist eine ökologische Notwendigkeit. Die Larven kriechen zur Verpuppung in den Boden und müssen sich dort, da sie keine Zeitgeber mehr wahrnehmen, auf eine äußerst genau gehende Uhr verlassen können, um nach der Puppenruhe von etwa 6-8 Tagen genau zur Zeit der höchsten Luftfeuchtigkeit aus dem Boden zu kriechen. Falls sie zur falschen Tageszeit schlüpften, würden die jungen Tiere, deren Kutikula noch nicht erhärtet ist, sofort vertrocknen(WINFREE 1974). Hier regelt die Uhr also einen zu einem ganz bestimmten Zeitpunkt erfolgenden einmaligen Vorgang ("gating", PITTENDRIGH 1966). Anders bei der Laufaktivität der adulten Tiere. Hier ist die Uhr mit dem Tag-Nacht-Wechsel synchronisiert. Eine solche Synchronisation ist aber wesentlich genauer, wenn die synchronisierte Uhr eine vom Zeitgeber verschiedene Periodenlänge hat (PITTENDRIGH u. DAAN 1975).

Die Tatsache, daß die Mitte eines Lichtpulses der richtige Bezugspunkt für dessen Phasenlage ist, wird durch die Ergebnisse von WIEDENMANN (1978) an Leucophaea maderae bestätigt. Auch dort kommen Phasenresponsekurven auf verschieden lange Lichtpulse nur bei dieser Verfahrensweise zur Deckung.
KRAMM (1977) findet bei dem Erdhörnchen Ammorspermophilus leucurus verschiedene Lagen der Phasenresponsekurven nach Lichtpulsen von 15 Min. bzw. 6 Std. Dauer,

wobei er als Bezugspunkt Pulsbeginn heranzieht. Die Verschiebung beträgt ungefähr 3 Std. und würde dadurch korrigiert, daß mit der Pulsmitte gerechnet würde. Es scheint also, daß sich die Phasenlage einer Störung allgemein nach der Mitte dieser Störung richtet. Über die Verhältnisse bei der Schlüpfrhythmik können keine Aussagen gemacht werden, da die verabreichten Lichtpulse zu kurz sind. Man könnte jedoch durch lange Lichtpulse sehr geringer Intensität Aufschluß darüber bekommen. Solche Versuche stehen noch aus.

Teil 2: Das Komplexauge als Photorezeptor für die Laufaktivitätsrhythmik. Lokalisation des Oszillators

Um die verschiedenen circadianen Rhythmen und die vor- und nachgeschalteten Prozesse klar voneinander unterscheiden zu können, bietet sich ein genetischer Ansatz als erfolgversprechender Weg an. In dieser Arbeit wurde unter anderem die Mutante Drosophila melanogaster sine oculis verwendet, die alle Übergänge von vollständig ausgebildeten bis zu vollständig reduzierten Komplexaugen aufweist. Diese Mutante, die überdies keine Ocelli besitzt, zeigt eine völlig normale Schlüpfrhythmik und läßt sich auch mit Lichtpulsen ähnlich wie die Wildform phasenverschieben (ENGELMANN u. HONEGGER 1967). Außerdem ist bekannt, daß eine visuelle Kontrolle über optomotorische Verhaltensweisen vorliegt, solange noch einige Ommatidien vorhanden sind (GÖTZ 1965). Das Interesse an dieser Mutante bestand zunächst darin, evtl. Aufschluß darüber zu bekommen, ob der Photorezeptor für die Laufaktivitätsrhythmik ebenfalls außerhalb der Augen sitzt, oder ob er wie beim optomotorischen Verhalten an das Komplexauge gebunden ist.

Ich konnte feststellen, daß die Tiere bei Vorhandensein von Augenresten eine der Wildform vergleichbare Aktivitätsrhythmik, bei völliger Reduktion jedoch ein diffuses, arhythmisch erscheinendes Aktivitätsmuster zeigen (Abb. 19, siehe jedoch unten). Die Ausbildung einer klaren Rhythmik ist also offensichtlich vom Vorhandensein der Komplexaugen abhängig, was diese, anders als bei der Schlüpfrhythmik, als Photorezeptoren für die Laufaktivitätsrhythmik ausweist.
Ähnliches konnte auch für andere Insekten nachgewiesen werden. So fand PAGE (1978), daß bei Leucophaea maderae Tiere, die auf einen LD synchronisiert sind, nach Durchtrennung des optischen Nervs unter den gleichen Bedingungen Freilauf zeigen. Andererseits hat bei Leucophaea die Entfernung der Lobi optici keine Auswirkung auf die Kuikularrhythmik (WIEDENMANN 1978). Diese Operation trennt sowohl die Photorezeptoren als auch die Oszillatoren vom Tier.

Die Mutante sine oculis wurde jedoch bei näherer Untersuchung mittels einer Zeitreihenanalyse auch noch in anderer Hinsicht interessant. Man findet bei den tatsächlich augenlosen Tieren drei Gruppen mit unterschiedlichen Aktogrammen, nämlich solche mit einer Periodenlänge, sodann solche mit zwei oder gelegentlich sogar drei verschiedenen Periodenlängen, wobei sich die einzelnen Rhythmen so überlagern, daß das oben genannte diffuse Aktivitätsmuster entsteht. Außerdem treten noch Tiere auf, die tatsächlich arhythmisch laufen, d.h. auch in der Zeitreihenanalyse keine signifikante Periodenlänge mehr zeigen.
Die Mutation kann nun maximal bis zur Mitte der Medulla voranschreiten (GÖTZ pers. Mitt.). Wenn hierbei gelegentlich Fälle von Arhythmie auftreten, so könnte dies bedeuten, daß die Oszillatoren für die Laufaktivitäts-

rhythmik beidseitig irgendwo zwischen dem Komplexauge und der Mitte der Medulla sitzen und bei entsprechend starker Gewebsreduktion fehlen.
Das Auftreten mehrerer Rhythmen bei einem Tier ist nicht ganz so einfach zu erklären. Nach WEVER (1962) ist eine Frequenztransformation in biologischen Systemen ausgeschlossen. Man muß also für jede Schwingung, die man beobachtet, einen speziellen zugrundeliegenden Oszillator annehmen. Bei zwei verschiedenen Rhythmen könnten dies die beiden Oszillatoren für die Laufaktivität in den Lobi optici sein. Beim Auftreten von drei Rhythmen könnte evtl. auch der Oszillator der Schlüpfrhythmik noch eine Rolle spielen. Ein Beispiel hierfür wäre ein Fall mit drei Periodenlängen von 22,2 Std., 23,7 Std. und25,4 Std. Hier entspicht die erste etwa der Laufaktivitätsrhythmik und die zweite recht genau der Schlüpfrhythmik. Die dritte, ungewöhnlich hohe Periodenlänge könnte vielleicht durch eine auf Grund der Mutation hervorgerufene Schädigung eines Oszillators oder auch durch veränderte Kopplungseigenschaften zwischen den einzelnen Oszillatoren erklärt werden. So fand PAGE (1978) bei Leucophaea maderae, daß nach Aufhebung der Kopplung zwischen den beiden Oszillatoren der Laufaktivität (z.B. durch Zerstören eines Oszillators) die Periodenlänge steigt.
Es war im Rahmen dieser Arbeit leider nicht mehr möglich, mit mikroskopischen Untersuchungsmethoden festzustellen, in welchem Bereich des durch die Mutation betroffenen Gewebes der Oszillator sitzt.
Für die Lokalisation von Oszillatoren in der Nähe der Komplexaugen bzw. im Lobus opticus gibt es mehrere Beispiele. So wurde bereits erwähnt, daß KOEHLER und FLEISSNER (1978) bei dem Käfer Blaps und NISHIITSUTSUJI-UWO und PITTENDRIGH (1968 a, b) bei Schaben Oszillatoren

in den Komplexaugen bzw. im Lobus opticus gefunden haben. PAGE (1978) konnte den Sitz des Oszillators weiter einengen. Er fand durch elektrische Verschmelzung von kleinen Zellbereichen im Lobus opticus von Leucophaea, daß der Oszillator am ventralen Rand der Lobula sitzt. Eine beidseitige Zerstörung dieses Zellbereichs führt zu Arhythmie.

Nachdem nun zumindest als sehr wahrscheinlich angesehen werden konnte, daß der Oszillator der Laufaktivitätsrhythmik im distalen Teil des Lobus opticus sitzt, bot sich zur näheren Untersuchung eine weitere genetische Verfahrensweise an. Hierbei wurden Mutanten von Drosophila melanogaster verwendet, bei denen entweder das Tag- (Ly^3) oder das Nachtsystem (Jk 84) im Komplexauge defekt ist. Da die beiden Systeme eine unterschiedliche nervöse Verschaltung im Lobus opticus aufweisen - das Nachtsystem hat Synapsen in der Lamina und Medulla, wogegen das Tagsystem die Lamina durchläuft und nur Synapsen in der Medulla hat - ist hier eine Entscheidung darüber möglich, ob der Oszillator in der Lamina sitzt oder nicht.
Ausgehend von der Hypothese, daß der Oszillator in der Lamina lokalisiert ist, sollte man deutliche Unterschiede der Beeinflussung der Laufaktivitätsrhythmik durch Licht zwischen den beiden Mutanten erwarten, da ja dann im Falle der Mutante Jk 84 nur das Tagsystem Informationen über die Lichtverhältnisse aufnimmt und an der Lamina vorbeileitet, während bei der Mutante Ly^3 die Lamina durchaus diese Information empfangen kann. Andererseits müßten für den Fall, daß die Medulla den Sitz des Oszillators darstellt, gleiche oder zumindest sehr ähnliche Verhaltensweisen bei den Mutanten zu beobachten sein. Zunächst wurden tatsächlich Unterschiede bei den Periodenlängen in RR festgestellt,

wobei Ly^3 eine höhere Periodenlänge (23,71 Std.) als Jk 84 (23,14 Std.) zeigt. Diese Unterschiede gleichen sich aber aus, wenn die Lichtbedingungen entsprechend verändert werden. Oberhalb von 300 µW/cm^2 (weißes Licht) laufen alle Tiere arhythmisch und im DD zeigen sich zwar noch geringfügige Unterschiede in den Periodenlängen, die jedoch nicht mehr signifikant sind. Die Unterschiede werden also offenbar nur innerhalb eines bestimmten Lichtintensitätsbereichs eben durch das Licht verursacht. Dies läßt sich mit den unterschiedlichen morphologischen Verhältnissen im Komplexauge und mit der Tatsache erklären, daß die Periodenlänge mit der Lichtintensität größer wird. Bei niedrigen Lichtintensitäten spricht nur das Nachtsystem an. Dies führt bei der Wildform zu einer bestimmten Periodenlänge. Bei der Mutante Ly^3 fällt sehr wahrscheinlich mehr Licht auf dieses Nachtsystem, weil hier Rhabdomer Nr.7 fehlt und folglich die Rhabdomere Nr. 1-6 nicht mehr beschattet. Dies könnte der Grund sein für eine höhere Periodenlänge als bei der Wildform. Bei der Mutante Jk 84 fehlt das Nachtsystem, so daß hier entsprechend mehr Licht auf das Tagsystem fallen müßte. Dies macht sich jedoch bei niedrigen Lichtintensitäten nicht bemerkbar, weil hier das Tagsystem noch nicht arbeitet. Jk 84 hat daher bei diesen Lichtverhältnissen die niedrigste Periodenlänge. Bei zunehmender Lichtintensität verschwinden diese Unterschiede wieder.

Es kann also gesagt werden, daß die Unterschiede der Mutanten Ly^3 und Jk 84 nur durch die peripheren Verhältnisse im Komplexauge bedingt sind, zumal sich beide Mutanten im LD bzw. RD gleichermaßen gut synchronisieren lassen.

In Einklang damit steht die Beobachtung, daß die Pha-

senlagen nach LL/DD ebenfalls unterschiedlich, wenn auch nicht in jedem Fall signifikant sind. Hier wurde gleichzeitig die Mutante Drosophila melanogaster white getestet, der die roten Abschirmpigmente im Komplexauge fehlen, wodurch die einzelnen Sehzellen mehr Licht empfangen. Diese Mutante zeigt ebenfalls eine von der Wildform verschiedene Phasenlage. Da hier mit Sicherheit das circadiane System nicht von der Mutation beeinträchtigt ist, muß der Unterschied auf der gesehenen Lichtintensität beruhen, was die Befunde bei Ly^3 und Jk 84 unterstützt.
Insgesamt kann also aufgrund der Ergebnisse bei sine oculis, Ly^3 und Jk 84 vermutet werden, daß sich der Oszillator für die Laufaktivitätsrhythmik beidseitig in der distalen, zwischen der Mitte der Medulla und dem Komplexauge gelegenen Hälfte des Lobus opticus befindet, wobei als Sitz wahrscheinlich die Medulla in Betracht kommt.

Teil 3: Die Wirkung von Lithiumchlorid, Kaliumchlorid und Rubidiumchlorid auf die circadiane Laufaktivität von Drosophila

Um Information über den Weg eines bestimmten Signals (z.B. Lichtpuls) vom Rezptor über Zwischenglieder zum Oszillator und über weitere Zwischenglieder zum Ort der Reaktion zu erhalten, kann man außer auf genetische auch auf chemische Verfahrensweisen zurückgreifen.
Eine letzte Versuchsreihe befaßt sich daher mit der Frage, wie Alkalimetallsalze die Periodik der Laufaktivität beeinflussen. ENGELMANN (1972, 1973) fand, daß sowohl die Blütenblattbewegung von Kalanchoe blossfeldiana als

auch die Laufaktivität von Meriones crassus unter Konstantbedingungen nach Verabreichung von LiCl eine Verlängerung der Periodenlänge zeigen. Das gleiche gilt auch für die Laufaktivität von Leucophaea maderae und Mesocricetus auratus (HOFMANN et al. 1978). Auch für die Schlüpfrhythmik von Drosophila gibt es Anhaltspunkte, daß die Periodenlänge durch Lithium verlängert wird (unveröff. Praktikumsergebnisse).
In dieser Arbeit wurde festgestellt, daß auch die Laufaktivitätsrhythmik der adulten Tiere in der gleichen Weise reagiert. Man findet, wenn man 1,0 mM-Lösung LiCl im Trinkwasser anbietet, eine Verlängerung von τ um durchschnittlich 0,42 Std., was den Befunden in anderen Organismen durchaus entspricht.
Die Frage, wie sich Lithiumsalze auf den Oszillator auswirken, kann zur Zeit noch nicht eindeutig beantwortet werden. BUNNEY et al. (1979) vermuten, daß Lithium mit anderen ein- und zweiwertigen Ionen wie Natrium, Kalium, Magnesium, Calcium usw., evtl. auch mit Ammoniumgruppen konkurriert, daß es in hohen Konzentrationen Kalium-Kanäle in der Membran blockiert und daß es vielleicht Calcium-abhängige Prozesse (Neurotransmitter, cAMP) beeinträchtigt.
DICK et al. (1977) fanden, daß beim Mensch nach Lithium-Gabe der Oubain-empfindliche Kalium-Einfluß in die Zelle herabgesetzt wird. GLYNN und KARLISH (1975) beschreiben die Natrium-Pumpe als einen Mechanismus innerhalb der Membran, der für den Austausch von Natrium gegen Natrium, Natrium gegen Kalium und Kalium gegen Kalium gleichermaßen zuständig ist, und PANDEY et al. (1977) vermuten ein Eingreifen von Lithium in diesen Mechanismus (möglicherweise einen Natrium-Lithium-Austausch). Auch bei Pflanzen scheint Lithium die Austauschrate anderer Kationen zu verändern, indem es die ATPase-Aktivität der Plasmamembran herabsetzt (LEONARD u.

HOTCHKISS 1976). Für Rubidium wird eine ähnliche Wirkung berichtet.
Vor diesem Hintergrund, daß die Wirkung von Lithium möglicherweise auf einer Verdrängung von Kalium beruht, ist der Versuch zu sehen, wie RbCl auf die Laufaktivitätsrhythmik wirkt,und der periodenverlängernde Effekt von Lithium möglicherweise ebenso durch Kalium-Entzug herbeigeführt werden kann.
Meine Versuche ergaben, daß RbCl mit im Mittel 0,63 Std. ähnliche Periodenverlängerungen bewirkt wie LiCl, und daß auch bei Kalium-freier Diät eine Verlängerung von durchschnittlich 0,25 Std. auftritt. Diese Ergebnisse befinden sich damit im Einklang mit der Hypothese, daß die Lithium-Wirkung indirekter Art ist und sich über die Veränderung im Kalium-Haushalt bemerkbar macht.
Wenn aber der Kalium-Gehalt der Zelle oder die Natrium-Kalium-Pumpe in der Membran mit der circadianen Periodik verknüpft sein sollten, dann müßte man nach Kalium-Pulsen Phasenverschiebungen erwarten.
Dies wurde getestet und es traten nach Pulsen mit 50 mM-KCl-Lösung im Trinkwasser von fünf Std. Dauer tatsächlich Verfrühungen bis zu vier Std. auf.
Kalium scheint also für die tagesperiodische Laufaktivität von Drosophila eine gewisse Rolle zu spielen, wie es ja auch für Pflanzen schon seit langem diskutiert wird und in verschiedenen Modellen zum Ausdruck kommt (NJUS et al.1974; SCHWEIGER u. SCWEIGER 1977; SWEENEY 1974 a, 1976 a).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß Drosophila pseudoobscura ein Multioszillatorsystem besitzt, bei dem mindestens zwei verschiedene Systeme für die Schlüpfrhythmik einerseits und die Laufaktivitätsrhythmik andererseits zuständig sind. Damit verbunden sind Unter-

schiede in den Photorezeptoren,und ihrer jeweiligen Lichtempfindlichkeit, verschiedene Formen der Phasenresponsekurven, unterschiedliche Periodenlängen unter Konstantbedingungen und unterschiedliches Verhalten bei dem Versuch, Arhythmie zu erzeugen. Vor allem das parallele Laufen zweier Oszillatoren während der Puppenruhe und das Auftreten mehrerer Periodenlängen bei der Mutante sine oculis sind wohl als endgültige Beweise für die Richtigkeit der Ausgangshypothese anzusehen.

Der Sitz des Oszillators der Laufaktivitätsrhythmik kann nach Versuchen an den Mutanten sine oculis, Ly^3 und Jk 84 im distalen Teil der Medulla vermutet werden. Auch hier zeigt sich ein weiterer Unterschied zur Schlüpfrhythmik, denn die Mutante sine oculis, bei der zum Teil arhythmische Aktivitätsmuster auftreten, hat ein ganz normales Schlüpfverhalten. Dies bedeutet, daß der Oszillator der Schlüpfrhythmik durch die Mutation nicht beeinträchtigt wird und infolgedessen weiter zentral gelegen sein muß. Es ist zu vermuten, daß er, ähnlich wie bei dem Seidenspinner Antheraea pernyi, im Zentralgehirn sitzt und dort seinen eigenen Photorezeptor hat.(MENAKER u.a. 1978; WILLIAMS u. ADKISSON 1964). Entsprechende Versuche an Drosophila deuten auf einen auf Blaulicht empfindlichen Rezeptor, der möglicherweise Flavin sein könnte, im Zentralgehirn (ZIMMERMAN u. GOLDSMITH 1971; NINNEMANN 1979; TRUMAN 1975).

Schließlich konnte gezeigt werden, daß die Natrium-Kalium-Pumpe bei der circadianen Rhythmik beteiligt ist, wobei allerdings keine Aussagen darüber gemacht werden können, wie die Veränderung der Periodenlänge bzw. die Phasenverschiebung nach Verabreichung bzw. Entzug von Kalium zustandekommt.

Als Ausblick auf die weitere Verfahrensweise bei der Untersuchung der Laufaktivitätsrhythmik von Drosophila würde ich vorschlagen, das Verhalten der Fliegen, besonders der Mutanten sine oculis, Ly^3 und Jk 84, bei Temperaturpulsen eingehend zu untersuchen. Hierbei könnte eindeutig festgestellt werden, ob wirklich keine Unterschiede zwischen Ly^3 und Jk 84 bestehen, da die Temperaturpulse von allen Augenmutanten in gleicher Weise verarbeitet werden müßten. Außerdem könnte überprüft werden, ob die arhythmischen Individuen von sine oculis auch durch Temperaturpulse nicht rhythmisch gemacht werden können. Da die Schlüpfrhythmik von Drosophila diesbezüglich schon untersucht wurde (CHANDRASHEKARAN 1974; HAMM u.a. 1975), bieten sich auch hier interessante Vergleichsmöglichkeiten.

Falls die Arhythmie bei sine oculis auch nach Temperaturpulsen aufrechterhalten würde, müßte sich meiner Ansicht nach eine mikroskopische Untersuchung dieser Tiere anschließen, um aufgrund der morphologischen Veränderungen den Sitz des Oszillators weiter eingrenzen zu können.

Da Drosophila auf Kalium-Pulse mit Phasenverschiebungen reagiert und bei Dauergabe Periodenverlängerung zeigt, würde ich es interessant finden, der Wirkungsweise von Kalium bei tierischen Organismen näher auf den Grund zu gehen. Vielleicht bieten sich für solche Untersuchungen jedoch besser einfachere Organismen (Einzeller) an.

E ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird versucht, Aufschluß darüber zu bekommen, ob die Fruchtfliege Drosophila ein sogenanntes Multioszillatorsystem besitzt, d.h., ob die Schlüpfrhythmik und die Laufaktivitätsrhythmik evtl. von verschiedenen Uhren gesteuert werden. Hierfür wird die Laufaktivitätsrhythmik unter verschiedenen Gesichtspunkten eingehend untersucht. Es können folgende Ergebnisse festgehalten werden:

1. Die Periodenlänge unter Konstantbedingungen (RR 20 $\mu W/cm^2$, 22°C) beträgt für Drosophila pseudoobscura 22,5 Std., für Drosophila melanogaster 23,39 Std. Da die Schlüpfrhythmik von Drosophila pseudoobscura eine Periodenlänge von etwa 24 Std. hat, kann hier bereits ein erster Unterschied festgestellt werden.
2. Die Periodenlänge der Laufaktivitätsrhythmik wird mit steigender Lichtintensität höher. Dies steht im Gegensatz zur Schlüpfrhythmik, wo die Periodenlänge niedriger wird, und widerspricht der ASCHOFF-Regel.
3. Im LD 12:12 zeigt Drosophila eine klare diurnale Aktivität mit bimodaler Verteilung, wobei festgestellt werden kann, daß das erste Aktivitätsmaximum im LD bei anschließend angebotenem DD verschwindet und sich als Maskierung herausstellt.
4. Es werden Phasenresponsekurven für 2, 3, 3,25, 3,5, 6 und 12 Std. bei 3000 Lux weißes Licht erstellt. Der Übergang von schwacher zu starker Response liegt bei 3 Std. und 10 Min. Lichtpulslänge. Der Phasensprung von delay nach advance liegt bei ca. CT 12, die Kurven haben keine tote Zone. Somit ergibt sich hier ein weiterer gravierender Unter-

schied zur Schlüpfrhythmik.

5. Beim Einbringen von sehr jungen Puppen von LL in DD kann man beobachten, daß vom LL/DD-Übergang ab die Schlüpfrhythmik mit 24 Std. Periodenlänge und parallel dazu die Laufaktivitätsrhythmik mit 22,5 Std. Periodenlänge gemessen werden, daß also zwei verschiedene Rhythmen gleichzeitig in einem Tier auftreten.
6. Bei der Mutante Drosophila melanogaster sine oculis finden sich Tiere mit mehreren Periodenlängen und völlig arhythmische Tiere. Da durch die Mutation der Lobus opticus bis zur Mitte der Medulla fehlen kann, wird vermutet, daß der Oszillator der Laufaktivitätsrhythmik in dem betroffenen Gewebe liegen könnte. Da die Schlüpfrhythmik dieser Mutante völlig normal ist, ist ein weiterer Unterschied zur Laufaktivitätsrhythmik festzustellen.
7. Versuche an den Drosophila-melanogaster-Mutanten Ly^3 und Jk 84 zeigen, daß der Oszillator höchstwahrscheinlich nicht in der Lamina liegt. Zusammen mit den Versuchen an sine oculis kommt man zu dem Schluß, daß wahrscheinlich die Medulla als Sitz des Oszillators in Frage kommt.
8. Die Wirkung von Lithium, Kalium und Rubidium auf die Periodenlänge von Drosophila wird untersucht. Dabei zeigt sich, daß der periodenverlängernde Effekt von Lithium und Rubidium auch durch bloßen Kaliumentzug herbeigeführt werden kann. Daraus wird abgeleitet, daß die Wirkung von Lithium und Rubidium indirekter Art ist und Kalium eine gewisse Rolle für die circadiane Rhythmik von Drosophila spielt. Dies wird unterstützt durch den phasenverschiebenden Effekt von Kalium bei Pulsversuchen.

Aus den Punkten 1 bis 7 wird geschlossen, daß Drosophila tatsächlich ein Multioszillatorsystem besitzt, bei dem mindestens zwei Oszillatoren bzw. zwei Gruppen von Oszillatoren für Schlüpfrhythmik einerseits und Laufaktivitätsrhythmik andererseits zuständig sind.

F LITERATUR

ASCHOFF, J.: Periodik licht- und dunkelaktiver Tiere unter konstanten Umgebungsbedingungen. Pflügers Arch. Ges. Physiol. 270, 9, 1959

ASCHOFF, J.: Desynchronization and resynchronization of human circadian rhythms. Aerospace Med. 40, 844-849, 1969

ASCHOFF, J.: Internal dissociation and desynchronization of circadian systems. Proc. 21st Int. Congr. Aviation and Space Medicine, 255, 1973

BARTHE, E.: Untersuchungen zur tagesperiodischen Aktivitätsrhythmik von Drosophila pseudoobscura. Zulassungsarbeit Tübingen 1977.

BOLLIG, I.: Photoperiodic time measurement and circadian leaf movement in Pharbitis nil controlled by the same clock? Z. Pflanzenphysiol. 77, 54-69, 1975

BÜNNING, E.: Die endogene Tagesrhythmik als Grundlage der photoperiodischen Reaktion. Ber. dtsch. Bot. Ges. 54, 590-607, 1936

BÜNNING, E.: Die physiologische Uhr. Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1958 a

BÜNNING, E.: Circadian rhythms and the time measurement in photoperiodism in biological clocks. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology (ed. A. Chovnik) XXV, 249-256, 1960

BÜNNING, E.: Die pysiologische Uhr. Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1977

BUNNEY, W.E., PERT, A., ROSENBLATT, J., PERT, C.B. and GALLAPER, D.: Mode of action of Lithium. Arch. Gen. Psychiatry, 36, 898-901, 1979

CHANDRASHEKARAN, M.K.: Studies on phase shifts in endogenous rhythms. 1. Effects of light pulses on the eclosion rhythm in Drosophila pseudoobscura. Z. vergl. Physiol., 56, 154-162, 1967

CHANDRASHEKARAN, M.K.: Phase shifts in the Drosophila pseudoobscura rhythm evoked by temperature pulses of varying duration. J. Interdiscipl. Cycle Res. 5, 371-380, 1974

CHANDRASHEKARAN, M.K.: and ENGELMANN, W.: Early and late subjective night phases of the Drosophila pseudoobscura circadian rhythm require different energies of blue light for phase shifting. Z. Naturforsch. 28 c, Heft 11, 12, 1973

DICK, D.A.T., NAYLOR, G.J., DICK, E.G.: Effect of lithium on sodium transport across membranes. First British Lithium Congress, University of Lancaster, 1977

ECKERT, H.: Die spektrale Empfindlichkeit des Komplexauges von Musca (Bestimmung aus Messungen der optomotorischen Reaktion). Kybernetik 9, 145-156, 1971

ENGELMANN, W.: Effect of light and dark pulses on the emergence rhythm of Drosophila pseudoobscura. Experientia 22, 606, 1-6, 1966

ENGELMANN, W.: Phase shifting of eclosion in Drosophila pseudoobscura as a function of the energy of light pulse. Z. vergl. Physiol 64, 111-117, 1969

ENGELMANN, W.: Lithium slows down the Kalanchoe clock. Z. Naturforsch. 27 b, 477, 1972

ENGELMANN, W.: A slowing down of circadian rhythms by Lithium ions. Z. Naturforsch. 28 c, 733-736, 1973

ENGELMANN, W. u. HONEGGER, H.W.: Tagesperiodische Schlüpfrhythmik einer augenlosen Drosophila melanogaster-Mutante. Nat. Wiss. 22, 588, 1967

ENGELMANN, W., KARLSSON, H.G. and JOHNSON, A.: Phase shifts in the Kalanchoe petal rhythm caused by light pulses of different duration. A theoretical and experimental study. Intern. J. Chronobiol. 1, 147-156, 1973

ENGELMANN,W. and MACK, J.: Different oscillators control the circadian rhythm of eclosion and activity in Drosophila. J. comp. Physiol. 127, 229-237, 1978

ESKIN, A.: Some properties of the system controlling the circadian activity rhythm of sparrows. In: Biochronometry (ed. M. Menaker), 55-80, Washington, Nat. Acad. Sc. 1971

GLYNN, J.M. and KARLISH, S.J.D.: The sodium pump. Annual Rev. Physiol. 37, 13-55, 1975

GÖTZ, K.G.: Verhaltensanalyse des visuellen Systems der Fruchtfliege Drosophila. Mitteilungen aus der Max-Planck-Gesellschaft 6, 346-356, 1965

GÖTZ, K.G.: Sehen, Abbilden, Erkennen - Verhaltensforschung am visuellen System der Fruchtfliege Drosophila. Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges. 1975, 10-33, 1975

HANDLER,A.M. and KONOPKA, R.J.: Transplantation of a circadian pacemaker in Drosophila. Nature 279, 236-239, 1979

HAMM, U., CHANDRASHEKARAN, M.K. and ENGELMANN,W.: Temperature sensitive events between photoreceptor an circadian clock? Z. Naturforsch., 30c, 240-244, 1975

HARDELAND, R.: Species differences in the diurnal rhythmicity of courtship behaviour within the Melanogaster group of the genus Drosophila. Anim. Behav. 20, 170-174, 1972

HARRIS, W.A., STARK, W.S. and WALKER, J.A.: Genetic dissection of the photoreceptor system in the compound eye of Drosophila melanogaster. J. Physiol. 256, 415-439, 1976

HEISENBERG, M. and BUCHNER, E.: The role of retinula cell types in visual behaviour of Drosophila melanogaster. J. comp. Physiol. 117, 127-162, 1977

HOFFMANN, K.: Circadiane Periodik bei Tupajas (Tupaja glis) in Konstantbedingungen. Zool. Anz. Suppl. 33, 171-177, 1970

HOFFMANN, K.:Splitting of the circadian rhythm as a function of light intensity, In: Biochronometry (ed. M. Menaker), 134-150, Washington, Nat. Acad. Sc. 1971

HOFMANN, K., GÜNDEROTH-PALMOWSKY, M., WIEDENMANN, G. and ENGELMANN, W.: Further evidence for period lengthening effect of Li^+ on circadian rhythms. Z. Naturforsch. 33 c, 231-234, 1978

HONEGGER, H.W.: Zur Analyse der Wirkung von Lichtpulsen auf das Schlüpfen von Drosophila pseudoobscura. Z. vergl. Physiol. 57, 244-262, 1967

KIEFNER, C., SCHLIESSMANN, F. and ENGELMANN, W.: Methods for recording circadian rhythms in Euglena. Int. J. Chronobiol. 2, 189-195, 1974

KIRSCHFELD, K.: Optics of the compound eye. In: Processing of optical data by organisms and by machines. (ed. W. Reichardt), 144-166, New York Academic Press 1969

KIRSCHFELD, K.: Aufnahme und Verarbeitung optischer Daten im Komplexauge von Insekten. Naturwissenschaften 58, 201-209, 1971

KOEHLER, W. and FLEISSNER, G.: Internal desynchronization of bilaterally organized circadian oscillators in the visual system of insects. Nature 274, 708-710, 1978

KONOPKA, R.J. and BENZER, S.: Clock mutants of Drosophila melanogaster. Proc. Nat. Acad. Sc. USA, 68, 2112-2116, 1971

KRAMM, K.R.: Phase control of circadian activity in the Antelope Ground Squirrel. J.Interdicipl. Cycle Res. 7, Nr. 2, 127-138, 1976

LEONARD, R.T. and HOTCHKISS, C.W.: Cation-stimulated ATPase-activity and cation transport in corn roots. Plant Physiol. 58, 331-335, 1976

LICKEY, M.E., BLOCK, C.D., HUDSON, D.J. and SMITH, J.T.: Circadian oscillators and photoreceptors in the gastropod Aplysia. Photochem. Photobiol. 23, 253-273, 1976

MARTIN, W., KIPRI, U., und BRINKMANN, K.: Timesdia - ein interaktives Programm zur Analyse periodischer Zeitreihen. EDV in Medizin und Biologie 8, 3, 90-94 1977

MAYER, W.E. und SADLEDER, D.: Unterschiedliche Lichtintensitätsabhängigkeit der Spontanperioden als Ursache interner Synchronisation circadianer Rhythmen bei Phaseolus coccineus. Planta 108, 173-178, 1972

MENAKER, M., TAKAHASHI, J.S., and ESKIN, A.: The physiology of circadian pacemakers. Ann. Rev. Physiol. 40, 501-526, 1978

MINIS, D.H. and PITTENDRIGH, C.S.: Circadian oscillation controlling hatching: Its ontogenety during embryogenesis of a moth. Science 159, 534-536, 1963

NINNEMANN, H.: Photoreceptors for circadian rhythms. Photochem. Photobiol. Rev. 4 (ed. K. Smith), 1979

NISHIITSUTSUJI-UWO, J. and PITTENDRIGH, C.S.: Central nervous system control of circadian rhythmicity in the cockroach. II Pathway of the light signals that entrain the rhythm. Z. vergl. Physiol. 58, 1-3, 1968 a

NISHIITSUTSUJI-UWO, J. and PITTENDRIGH, C.S.: Central nervous system control of circadian rhythmicity in the cockroach. III The optic lobes, locus of the driving oscillation? Z. vergl. Physiol. 58, 14-46, 1968b

NJUS, D., SULZMAN, F.M. and HASTINGS, J.W.: Membrane model for the circadian clock, Nature 248, 116-120, 1974

PAGE, T.L.: Interactions between bilaterally paired components of the cockroach circadian system. J. comp. Physiol. 124, 225-236, 1978

PAK, W. L. and PINTO, L.H.: Genetic aproach to the study of the nervous system. Ann. Rev. Biophysics and Bioengineering (ed. W. Mullins) 1976

PANDEY, G.N., DORUS, E., DAVIS, J.M. and TOSTESON, D.C.: Lithium transport in human red blood cells. Arch. Gen. Psychiatry 36, 902-908, 1979

PAVLIDIS, TH.: Studies on biological clocks: A model for the circadian rhythm of nocturnal organisms. In: Lectures in Mathematics in the Life-Sciences I (ed. M. Gerstenhaber), Providence, Rhode Islands American Mathematical Society 1968

PETERSON, E.L.: Phase resetting a mosquito circadian oscillator. Im Druck

PITTENDRIGH, C.S.: On the mechanism ofthe entrainment of a circadian rhythm by light cycles. Circadian Clocks (ed. J. Aschoff), 277-297, 1964

PITTENDRIGH, C.S.: The circadian oscillation in Drosophila pseudoobscura-pupae: A model for the photoperiodic clock. Z. Pflanzenphysiol. 54, 275-307, 1966

PITTENDRIGH, C.S.: Circadian rhyrhms, space research and manned space flight. Life Sc. 5, 122-134, 1967

PITTENDRIGH, C.S. and MINIS, D.H.: The entrainment of circadian oscillations by light and their role as photoperiodic clocks. Am. Naturalist 98,261-294, 1964

PITTENDRIGH, C.S. and DAAN, S.: A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. IV Entrainment: Pacemakers as clocks. J. comp. Physiol. 106, 291-331, 1975

PITTENDRIGH, C.S. and DAAN, S.: A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. V Pacemaker structure: A pacemaker for all seasons. J. comp. Physiol. 106, 333-355, 1976

POWER, M.E.: The effect of reduction in numbers of ommatidia upon the brain of Drosophila melanogaster. J. Exper. Zool. 94, 33-71, 1943

SAUNDERS, D.S.: An experimental and theoretical analysis of photoperiodic induction in the flesh-fly, Sarcophaga agyrostoma. J. comp. Physiol. 124, 75-95, 1978

SCHWEIGER, H.G. and SCHWEIGER, M.F.W.: Circadian rhythms in unicellular organisms: an endavour to explain the molecular mechanism. Intern. Rev. Cytol. 51, 315-342, 1977

SWEENEY,B.M.: A physiological model for circadian rhythms derived from the Acetabularia rhythm paradoxes. Intern. J. Chronobiol. 2, 25-33, 1974 a

SWEENEY,B.M.: Pros and cons of the membrane model for circadian rhythms in the marine algae Gonyaulax and Acetabularia. In: Biological Rhythms in the Marine Environment (ed. P.J. DeCoursey), 63-76, University of South Caroloina Press, 1976 c

TAUBER, H. and HARDELAND, R.: Circadian rhythmicity of tyrosine aminotransferase activity in Drosophila melanogaster. Insect Biochem. 7, 503-505, 1977

TRUMAN, J.W.: Extraretinal photoreception in insects. Photochem. Photobiol. 23, 215-225, 1976

WEVER, R.: Zum Mechanismus der Biologischen 24 Std.-Periodik. Kybernetik 1, 4, 139-154, 1962

WEVER, R.: Zum Mechanismus der biologischen 24 Std-Periodik. II. Mitteilung: Der Einfluß des Gleichwerts auf die Eigenschaften selbsterregter Schwingungen. Kybernetik 1,6, 213-231, 1963

WEVER, R.: Quantitative studies on the interaction between different circadian oscillators within the human multioscillator system. In: Proc 12th Intern. Conference Washington, 525-535, D.C., Milano: Il Ponte Publications 1975

WIEDENMANN, G.: Eigenschaften von zwei Tagesrhythmen bei Schaben der Arten Leucophaea maderae (Fabricius) und Blaberus fuscus (Burmeister). Dissertation Tübingen 1978

WILCOXON, F.: Some rapid axproximate statistical procedures. New York, Cyanamid Company, 1949

WINFREE, A.T.: Integrated view of resetting a circadian clock. J. theor. Biol. 28, 327-374, 1970 a

WINFREE, A,T.: The temporal morphology of a biological clock. In: Lectures on Mathematics in Life Sciences II (ed. M. Gerstenhaber), Providence , Rhode Islands, American Mathematical Society, 1970 b

WINFREE, A.T.: On the photosensitivity of the circadian time sense of Drosophila pseudoobscura. J. theor. Biol. 25, 159-189, 1972

WINFREE, A.T.: Resetting the amplitude of Drosophila circadian chronometer. J. comp. Physiol. 85, 105-140, 1973

WINFREE, A.T.: Supressing Drosophila circadian rhythm with dim light. Science, 183, 970-972, 1974

WILLIAMS, C.M. and ADKISSON, P.L.: Physiology of insect diapause. XIV An endocrine mechanism of the photoperiodic control of pupal diapause in the oak silkmoth Antherea pernyi. Biol. Bull. 127, 511-526, 1964

ZIMMERMAN, W.F. and GOLDSMITH, T.H.: Photosensitivity of the circadian rhythm and of visual receptors in carotenoid-depleted Drosophila. Science 171, 1167-1169, 1971

ZIMMERMAN, N.H. and MENAKER, M.: Neural connections of sparrow pineal: role in circadian control of activity. Science 190, 477-479, 1975

G ANHANG

Nährmedium für die Züchtung von Drosophila

850 ml Wasser
100 g Weizengrieß
100 g Zuckerrübensirup
10 g Agar
8 g Hefeflocken
5 g Weizenkeime

Alles zusammen wird solange aufgekocht, bis sich eine homogene Masse gebildet hat. Sodann werden als Fungizide hinzugefügt:

5,0 ml 4-Hydroxi-Benzoesäure-Methylester (Nipagin)
1,5 ml Propionsäure

Zur gleichmäßigen Verteilung wird am Schluß gut durchgerührt. Dann läßt man die Masse in den Zuchtgefäßen erkalten.

LEBENSLAUF

Name:	Jürgen Michael Mack
Geboren:	6. 10. 1952
Eltern:	Richard Mack und Luise geb. Fuggmann
Schulbesuch:	1959-1963 Albert-Schweitzer-Schule in Göppingen 1963-1971 Freihof-Gymnasium in Göppingen
Reifeprüfung:	25. 6. 1971
Studium:	WS 1971/72 - WS 1977/78 an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
Prüfungen:	12. 10. 1973 Zwischenprüfung in Biologie und Chemie 15. 11. 1977 Staatsexamen in Biologie und Chemie
Dissertation:	Seit Februar 1978 am Institut für Biologie I, Universität Tübingen, unter Anleitung von Prof. Dr. W. Engelmann über das Thema: Das Multioszillatorsystem von Drosophila. Ein Vergleich der tagesperiodischen Steuerung der Laufaktivität und des Schlüpfens.

Ich studierte bei:

In Biologie:	Braun, Bunke, Engelmann, Erkert, Frey, Grell, Hachtel, Haller, Kulzer, Mayer, Metzner, Mickoleit, Netzel, Neuweiler, Oberwinkler, Pelling, Rähle, Schwemmle, Seitz, Seyffert, Winkler, Zähner
In Chemie:	Bayer, Gelinek, Krug, Löhr, Lorenz, Mayer, Müller, Naumer, Oelkrug, Pausewang, Rau, Rüdorff, Seelig, Stegmann
In Physik und Mathematik:	Gönnenwein, Krüger, Pracht, Simon